



HAL
open science

Influence des symbiotes secondaires sur l'utilisation et la sélection de la plante hôte chez l'aleurode du tabac,

Bemisia tabaci

Sylvain Benhamou

► **To cite this version:**

Sylvain Benhamou. Influence des symbiotes secondaires sur l'utilisation et la sélection de la plante hôte chez l'aleurode du tabac, *Bemisia tabaci*. Biologie végétale. Université de Lyon, 2022. Français. NNT : 2022LYSE1030 . tel-04007927

HAL Id: tel-04007927

<https://theses.hal.science/tel-04007927>

Submitted on 28 Feb 2023

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.



N°d'ordre NNT : 2022LYSE1030

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON
opérée au sein de
l'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale 341
Évolution, Écosystème, Microbiologie, Modélisation

Spécialité de doctorat :
Biologie

Soutenue le 10 mars 2022, par :
Sylvain Benhamou

**Influence des symbiotes secondaires sur
l'utilisation et la sélection de la plante hôte chez
l'aleurode du tabac, *Bemisia tabaci***

Devant le jury composé de :

M. FELLOUS, Simon	Directeur de recherche	INRAE Montpellier	Rapporteur
Mme HUGUET, Elisabeth	Professeure des Universités	Université de Tours	Rapporteuse
Mme DECAESTECKER, Ellen	Professor	Katholieke Universiteit Leuven	Examinatrice
M. MALAUSA, Thibaut	Directeur de recherche	INRAE Sophia Antipolis	Examineur
Mme MOUTON, Laurence	Maître de Conférences	Université Lyon1	Directrice de thèse
Mme CALEVRO, Federica	Directrice de recherche	INRAE Lyon	Co-directrice de thèse
M. DESOUHANT, Emmanuel	Professeur des Universités	Université Lyon 1	Co-encadrant de thèse
M. VAVRE, Fabrice	Directeur de recherche	CNRS Lyon	Co-encadrant de thèse

REMERCIEMENTS

Je souhaiterais adresser mes remerciements les plus sincères à mes deux directrices de thèse **Laurence Mouton** et **Federica Calevro** ainsi qu'à mes deux encadrants **Emmanuel Desouhant** et **Fabrice Vavre**. Merci du fond du cœur. Je réalise la chance que j'ai eu de faire ma thèse aux côtés de scientifiques aussi talentueux et bienveillants. Vous avez su me guider sans pour autant m'imposer de choix, ce qui m'a permis de m'approprier pleinement mon sujet de thèse et de développer mes compétences scientifiques. Malgré vos emplois du temps chargés et vos nombreuses responsabilités, vous avez toujours pris le temps de m'écouter et de me lire. Vous avez aussi toujours fait en sorte que je puisse bénéficier au maximum de toute l'aide technique et scientifique dont j'avais besoin pour mener à bien des travaux de thèse et pour cela, je vous remercie encore. Ces trois années ont été rythmées par de nombreux changements, parfois prévus, parfois imprévus. Merci d'avoir été présents et de m'avoir aidé à tenir le cap lors des épisodes les plus mouvementés, notamment au printemps 2020.

Laurence, je tenais particulièrement à te remercier pour ta disponibilité et pour toute l'aide que tu m'as apporté au cours de ma thèse. Tu m'as rapidement offert la possibilité d'être autonome dans mon projet, sans jamais me donner l'impression de naviguer seul. Merci aussi pour ta patience inépuisable, même lorsque je l'ai mise à rude épreuve. Outre ton excellence scientifique et ta pédagogie, s'il y a bien une qualité que j'ai apprécié, c'est ton franc-parler.

Federica, merci de m'avoir poussé à aller toujours plus loin. Plus particulièrement, dès qu'une occasion se présentait, tu m'as encouragé à présenter mes travaux et à valoriser mon travail, en prenant à chaque fois le temps de me coacher avec l'exigence qui te caractérise. J'ai pu, petit à petit, prendre confiance en moi.

Fabrice, tu m'as marqué par l'étendue de tes connaissances et ton enthousiasme à l'égard de la recherche. J'ai toujours été très heureux de pouvoir te présenter mes résultats, je suis toujours ressorti grandi de nos échanges.

Emmanuel, je garderai en mémoire ton calme et ta pédagogie. Je me souviens de toutes les fois où je suis arrivé dans ton bureau avec des nœuds au cerveau à cause d'un problème en statistiques, et que tu m'as aidé à y voir plus clair.

Je tiens maintenant à remercier **Simon Fellous** et **Elisabeth Huguet** qui ont accepté d'être rapporteurs de mon travail de thèse. Merci pour l'intérêt que vous lui avez porté. Je tiens également à remercier **Ellen Decaestecker** et **Thibaut Malausa** pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Je voudrais ensuite adresser mes remerciements aux membres de mon comité de thèse : **Marlène Goubault**, **Abdelaziz Heddi**, **Yannick Outreman** et **Claire Valiente-Moro**. Merci d'avoir pris le temps de suivre l'avancée de mes travaux, et pour vos remarques constructives qui ont grandement participé à l'orientation de cette thèse.

J'ai réalisé ma thèse entre deux équipes, l'équipe *Génétique et Evolution des Interactions (GEI)* du *Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive (LBBE)* et l'équipe *Symbioses Trophiques (SymT)* du *Laboratoire Biologie Fonctionnelle, Insectes et Interactions (BF2i)*. J'ai eu la chance d'être entouré de personnes aussi passionnées que compétentes dans un cadre scientifique d'exception, dans lequel j'ai pu m'épanouir pleinement en tant que doctorant.

Je souhaite d'abord remercier toutes les personnes qui ont contribué au bon déroulement de ma thèse en m'aidant dans toutes les démarches administratives. Je remercie donc *Aurélié Herbomez* du côté du BF2i, et *Nathalie Arbasetti, Pulcherie Begbin, Laetitia Catouaria, Sahra Ferkous, Odile Mulet-Marquis, Aurélié Zerfass* du côté du LBBE

J'aimerais ensuite remercier toutes les personnes qui m'ont apporté leur soutien technique, sans qui mon projet n'aurait assurément pas eu la même envergure. Merci aussi à celles qui m'ont partagé leur expertise, en m'apprenant les gestes et méthodes qui m'ont servi au quotidien. Je tiens donc à remercier tout le *Pôle bio-technologique* du LBBE, ainsi que tout le personnel technique du BF2i.

Hélène, j'aimerais t'adresser des remerciements pour l'aide précieuse que tu m'as apportée tout au long de ma thèse. Tu as grandement participé à ce projet, que ce soit pour la production des plantes ou l'élevage de mes lignées. Merci aussi d'avoir partagé avec moi ton expertise en biologie moléculaire. Je n'avais que très peu d'expérience en arrivant en thèse mais tu as pris le temps de me former, ce qui m'a permis d'être rapidement autonome.

Isabelle, merci pour ta pédagogie et ton implication pendant ces trois années de thèse, j'ai beaucoup aimé travailler avec toi ! Tu as réalisé toutes les analyses HPLC de ce manuscrit avec toujours la même efficacité ... j'avais même parfois du mal à suivre ! Tu m'as permis de me concentrer sur d'autres aspects de mon projet et m'a fait gagner beaucoup de temps, et pour ça, je te remercie encore.

Merci à collègues et amis de bureau, *Alexis, Camille, Chloé, Benjamin, Marius, Pierre* et *Vincent* (et tous ceux que j'oublie !) pour la bonne atmosphère de travail et les bons moments du quotidien. *Zainab*, merci pour ta bonne humeur inépuisable et tes coups de main de temps en temps. Je me garderai de très bons souvenirs de nos longues journées d'été en salle '*Bemisia*' à compter des œufs ou trier des insectes.

Enfin, je veux remercier du fond du cœur ma famille et mon entourage proche. Quelles que soient les épreuves, quels que soient mes choix, j'ai eu la chance de toujours pouvoir compter sur vous.

TABLE DES MATIÈRES

CONTEXTE DE LA THÈSE	1
INTRODUCTION GÉNÉRALE	3
INTRODUCTION	5
1. La symbiose intracellulaire chez les insectes	5
1.1. Symbiose primaire.....	6
1.2. Symbiose secondaire	9
1.2.1. Tropisme tissulaire et modes de transmission	9
1.2.2. Diversité des phénotypes induits par les symbiotes secondaires.....	10
1.3. Evolution des génomes des symbiotes intracellulaires.....	15
1.3.1. Vie intracellulaire et réduction génomique	15
1.3.2. Complémentation métabolique.....	17
2. La symbiose comme moteur de diversification et de spéciation	20
2.1. Symbiose et isolement reproductif pré-zygotique	20
2.2. Symbiose et isolement reproductif post-zygotique	21
3. Modèle d'étude : <i>Bemisia tabaci</i>	23
3.1. Un complexe d'espèces très diversifié	23
3.1.1. Cycle biologique.....	23
3.1.2. Diversité génétique et biotypes	25
3.1.3. Gamme de plantes hôtes et importance agronomique	29
3.2. Une communauté symbiotique complexe	31
3.2.1. Le symbiote primaire.....	31
3.2.2. Diversité et prévalence des symbiotes secondaires	32
3.2.3. Localisation et transmission	34
3.2.3. Rôle des symbiotes secondaires chez <i>B. tabaci</i>	37
3.3. Rôle nutritionnel des symbiotes secondaires.....	38
4. Objectifs et organisation de la thèse	43
CHAPITRE 1.....	47
Article 1: Cytotype affects the capability of the whitefly <i>Bemisia tabaci</i> MED species to feed and oviposit on an unfavorable host plant.	
CHAPITRE 2.....	75
Article 2: Plant choice for oviposition in the phytophagous <i>Bemisia tabaci</i> : Cytotype knows the best!	

CHAPITRE 3.....	95
1. Avant-propos	96
2. Matériels et méthodes	99
2.1. Lignées	99
2.2. Production des femelles F1 pour les mesures phénotypiques sur les milieux Ap3 carencés en acides aminés.....	99
2.3. Milieux nutritifs artificiels.....	101
2.3.1. Milieu Ap3 complet et carencé en acides aminés, en ILV, ou en lysine	101
2.3.2. Élaboration du milieu Bt1	102
2.4. Mesures phénotypiques sur les milieux nutritifs artificiels	104
2.6. Analyses statistiques.....	106
3. Résultats	107
3.1. Mesures phénotypiques sur les milieux Ap3 carencés en acides aminés	107
3.2. Élaboration du milieu nutritif artificiel Bt1	110
3.3. Mesures phénotypiques sur le milieu Bt1	111
4. Discussion	114
DISCUSSION GÉNÉRALE.....	121
1. Influence de la plante hôte sur <i>B. tabaci</i> et ses symbiotes	122
2. Effet du cytotype : qui tire les ficelles ?	126
2.1. Variabilité mitochondriale entre cytotypes.....	127
2.2. Le symbiote primaire, <i>Portiera</i>	127
2.3. Les symbiotes secondaires	128
2.4. Le bactériocyte, une cellule somatique héritée maternellement.....	132
2.5. Effets maternels et considérations méthodologiques.....	135
3. La symbiose un moteur de spéciation ?	137
4. Conclusion	142
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	143
ANNEXE – <i>Curriculum Vitae</i>	165
ABSTRACT	170
RÉSUMÉ.....	170

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION

Tableau 1. Liste des acides aminés (essentiels, non-essentiels) et des vitamines B essentiels aux animaux.	7
Tableau 2. Fécondité, durée du cycle de développement et longévité moyenne de <i>B. tabaci</i> (espèce Méditerranéenne) à différentes températures	24
Tableau 3. Liste des 44 espèces <i>B. tabaci</i> identifiées à ce jour, sur la base du gène mitochondrial de la Cytochrome Oxydase I (délimitées par le seuil de divergence 3,5%).....	27
Tableau 4. Diversité des symbiotes intracellulaires associés à <i>B. tabaci</i>	32
Tableau 5. Lignées <i>B. tabaci</i> étudiées au cours de cette thèse	44
Tableau 6. Génotype nucléaire et cytotype des femelles F1 <i>B. tabaci</i> obtenues par croisement.	44

CHAPITRE 3

Tableau 7. Lignées de <i>B. tabaci</i> utilisées dans cette étude.....	99
Tableau 8. Génotype nucléaire et cytotype des femelles F1 <i>B. tabaci</i>	100
Tableau 9. Composition du milieu nutritif artificiel complet Ap3	102
Tableau 10. Profil en acides aminés totaux de <i>B. tabaci</i> , déterminé par analyse HPLC.....	110
Tableau 11. Composition en acides aminés des milieux nutritifs artificiels Ap3 et Bt1	111
Tableau 12. Fécondité et longévité moyenne de <i>B. tabaci</i> et de <i>A. pisum</i> sur milieu Ap3 et leurs plantes hôtes respectives.	118

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION

Figure 1. Aperçu schématique des différentes catégories de symbiotes selon leur localisation par rapport au corps de l'insecte.	6
Figure 2. Phylogénie d'espèces représentatives des hémiptères phytophages et de leurs symbiotes primaires nutritionnels.	8
Figure 3. Diversité des phénotypes de manipulation de la reproduction.	11
Figure 4. Réduction génomique des symbiotes lors de la transition de la vie libre à intracellulaire.	17
Figure 5. Représentation schématique de la biosynthèse du tryptophane chez <i>Cinara cedri</i>	19
Figure 6. Cycle de développement de <i>B. tabaci</i>	24
Figure 7. Distribution des divergences nucléotidiques par paires d'haplotypes du gène mitochondrial <i>mtCOI</i> de <i>B. tabaci</i>	25
Figure 8. Phylogénie du complexe d'espèces <i>B. tabaci</i> basée sur le gène mitochondrial <i>mtCOI</i>	26
Figure 9. Extrait de la phylogénie de <i>B. tabaci</i> basée sur le gène mitochondrial de la Cytochrome Oxydase I (<i>mtCOI</i>)	28
Figure 10. Prévalence des symbiotes secondaires et variation de la composition du cortège symbiotique chez <i>B. tabaci</i>	33
Figure 11. Localisation de <i>Portiera</i> et des symbiotes secondaires de <i>B. tabaci</i>	35
Figure 12. Contenu génique de <i>B. tabaci</i> et ses symbiotes pour les voies de biosynthèse des vitamines B et des acides aminés essentiels lysine, leucine, isoleucine et valine	40

CHAPITRE 3

Figure 13. Contenu génique de <i>B. tabaci</i> et de ses symbiotes pour les voies de biosynthèse des acides aminés essentiels isoleucine, leucine, valine et lysine.	97
Figure 14. Procédure expérimentale utilisée pour la production de femelles hybrides F1.	100
Figure 15. Dispositif expérimental utilisé pour les mesures phénotypiques sur les milieux nutritifs artificiels.	104
Figure 16. Dissection d'une femelle <i>B. tabaci</i>	105
Figure 17. Survie de <i>B. tabaci</i> en fonction de la composition du milieu artificiel.	107
Figure 18. Capacité de <i>B. tabaci</i> à produire des œufs sur milieu Ap3 carencé en acides aminés en fonction du cytotype et génotype de l'insecte.	109
Figure 19. Survie de <i>B. tabaci</i> sur l'hibiscus et sur milieux nutritifs artificiels Ap3 et Bt1.	112
Figure 20. Capacité des femelles <i>B. tabaci</i> CC(Q2-ARW) à produire des œufs sur l'hibiscus ou sur les milieux nutritifs artificiels Ap3 et Bt1.	113

DISCUSSION GÉNÉRALE

Figure 21. Influence de la plante hôte sur <i>B. tabaci</i> et ses symbiotes.	122
Figure 22. Diversité des entités génétiques intracellulaires chez <i>B. tabaci</i>	126
Figure 23. Modèle d'utilisation de la plante hôte facilitée par les symbiotes secondaires chez <i>B. tabaci</i>	131
Figure 24. Impacts direct et indirect de la composition du cortège symbiotique sur le métabolisme des acides aminés.	135
Figure 25. Phases du comportement de parade de <i>B. tabaci</i> New World.	139

CONTEXTE DE LA THÈSE

Mes travaux de recherche s'inscrivent dans le cadre du projet 'Micro-be-have' (*Microbial impact on insect behavior*), financé par l'Idex de Lyon. Ce projet avait pour objectif scientifique de comprendre comment les micro-organismes (bénéfiques ou pathogènes) influencent le comportement des insectes, et de décrypter les mécanismes sous-jacents à ces modifications. Il visait également à déterminer les conséquences de ces modifications sur l'écologie et l'évolution des insectes, et à développer de nouvelles méthodes de contrôle des ravageurs et des vecteurs de pathogènes. Pour aborder ces questions, ce projet a réuni plusieurs laboratoires partenaires spécialistes des relations insectes-microorganismes, travaillant sur divers modèles insectes (moustique, punaise de lit, aleurode, drosophile ...). Mon projet de thèse avait pour objectif d'étudier comment les micro-organismes influencent l'utilisation et le choix de la niche écologique chez l'aleurode du tabac, *Bemisia tabaci*, un important ravageur des cultures maraîchères et ornementales.

Les résultats présentés dans ce manuscrit sont issus d'un travail collaboratif entre deux laboratoires de l'Université de Lyon : le Laboratoire de Biométrie et de Biologie Évolutive (LBBE), et le Laboratoire Biologie Fonctionnelle, Insectes et Interactions (BF2I). L'équipe 'Génétique et Évolution des Interactions' (GEI) du LBBE a développé une expertise dans le domaine de la symbiose des insectes, et dans l'évolution des interactions hôte-symbiote et symbiote-symbiote. Elle est notamment reconnue pour ses travaux sur *B. tabaci*, qui comprennent l'évaluation de la diversité et des effets des communautés symbiotiques chez cet insecte. L'équipe 'SYMBioses Trophiques' du laboratoire BF2I est experte dans la physiologie et le métabolisme des symbioses nutritionnelles chez les insectes, et dans les bases moléculaires et cellulaires des interactions hôte-symbiotes. Elle travaille notamment depuis plusieurs années sur le système symbiotique puceron du pois / *Buchnera aphidicola*.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'étude de la symbiose microbienne, c'est-à-dire l'association entre un hôte eucaryote et des microorganismes symbiotiques (bactéries, champignons microbiens ou virus, pour les plus répandues), a connu un essor spectaculaire ces dernières décennies grâce au développement des techniques d'analyse génomique à haut débit (Gilbert *et al.*, 2018). Le constat issu de ces analyses pangénomiques est frappant : les symbiotes microbiens semblent universels et occupent une place centrale chez les organismes eucaryotes. Dans le corps humain par exemple, environ la moitié des cellules appartiennent en réalité à quelques 1000 espèces de bactéries, représentant une diversité de 2 000 000 gènes, soit 100 fois plus que les 20 000 gènes estimés chez l'homme (Gilbert *et al.*, 2018).

Ces découvertes ont conduit à réévaluer le concept de l'individualité, tant sur le plan anatomique, que développemental, physiologique ou immunitaire (Gilbert *et al.*, 2012). L'individu n'est alors plus considéré comme tel, mais comme une communauté d'organismes constituée de l'hôte et de ses communautés microbiennes [concept d'holobionte (Margulis et Fester, 1991; Mindell, 1992; Bordenstein et Theis, 2015; Chiu et Gilbert, 2015; Simon *et al.*, 2019)]. Par ailleurs, il est désormais admis que la symbiose est une source d'innovation évolutive qui serait à l'origine d'importantes radiations du vivant (Margulis et Fester, 1991), par la contribution des communautés microbiennes au phénotype de leur hôte, à travers l'expression conjointe de leur génome [concept d'hologénome (Rosenberg *et al.*, 2007; Zilber-rosenberg et Rosenberg, 2008; Bordenstein et Theis, 2015; Theis *et al.*, 2016)].

Les arthropodes, et plus spécifiquement les insectes, se sont rapidement imposés comme des modèles de choix pour étudier la symbiose. En effet, ces organismes sont particulièrement sujets aux infections microbiennes, et notamment celles impliquant des symbiotes à transmission maternelle verticale (des mères à leur progéniture), avec lesquels ils établissent et entretiennent des associations stables, dont certaines ont plus de 300 millions d'années (Ma) (Moran *et al.*, 2008). Ces associations sont très diverses, tant en ce qui concerne la position phylogénétique des symbiotes que les effets qu'ils induisent chez leurs hôtes (Zchori-Fein et Bourtzis, 2012). Dans certains cas, la symbiose a été

associée à des transitions évolutives importantes, permettant à leur hôte de coloniser avec succès de nouvelles niches écologiques. C'est le cas par exemple des insectes phytophages, chez qui l'acquisition de symbiotes nutritionnels a permis l'exploitation de la sève des plantes, une niche peu concurrentielle, mais carencée en nutriments essentiels (Buchner, 1965; Douglas, 2009; Hansen et Moran, 2014). Cependant, l'influence des symbiotes dans la capacité des insectes à exploiter différentes niches écologiques, comme par exemple, différentes espèces de plantes, et leur implication dans la diversification de leur hôte, sont encore peu connues.

L'objectif de mon projet de thèse était de mieux comprendre l'incidence des symbiotes sur l'écologie et l'évolution de leur hôte – les insectes phytophages, à travers l'étude de leur influence sur l'exploitation de la plante hôte. Mon manuscrit commence avec une Introduction structurée en trois parties. Les deux premières parties présentent la symbiose chez les insectes, et l'état de nos connaissances quant à leur influence sur divers aspects du phénotype et du comportement de leurs hôtes, ainsi que leurs potentielles conséquences évolutives. La troisième partie est consacrée à la présentation de l'aleurode du tabac, Bemisia tabaci, un insecte phytophage qui s'avère être un modèle de prédilection dans l'étude de la symbiose. Mon manuscrit se compose ensuite de trois Chapitres de résultats. Les deux premiers Chapitres sont présentés sous forme d'articles, rédigés en anglais. Le premier article, portant sur l'influence de symbiotes sur l'exploitation de la plante hôte par B. tabaci, a été publié dans la revue mBio en novembre 2021. Le second article, actuellement en préparation, explore l'influence des symbiotes sur la sélection de la plante hôte par B. tabaci. Le troisième Chapitre de résultats présente mes travaux en cours. Mon manuscrit se termine par une discussion générale qui intègre les différents résultats obtenus.

Le terme *symbiose* (littéralement, ‘vivre ensemble’) a été énoncé en 1879 par Anton De Bary lorsqu’il décrit pour la première fois le lichen, une association entre un champignon et une algue (de Bary, 1879). Il désigne ainsi l’association durable entre deux ou plusieurs organismes appartenant à des espèces distinctes. La notion d’association durable implique un contact physique prolongé pendant une partie significative du cycle de vie des différents protagonistes. En revanche, cette définition générale ne pose pas de contraintes quant à la nature de l’association, qui peut être bénéfique en cas de mutualisme, ou délétère en cas de parasitisme. Ainsi, la symbiose peut être représentée par un continuum d’interactions allant du mutualisme au parasitisme, et comprenant de nombreux états intermédiaires.

1. La symbiose intracellulaire chez les insectes

Chez les insectes, Hansen et Moran (2014) font une distinction en trois catégories de symbiotes selon leur localisation par rapport au corps de l’insecte (**Figure 1**). Certains symbiotes dits ectosymbiotes, vivent à l’extérieur de leur hôte. Ils peuvent, entre-autres, coloniser la cuticule de leur hôte ou sa nourriture pour en modifier les propriétés. D’autres symbiotes dits endosymbiotes, vivent à l’intérieur de leur hôte. Certains endosymbiotes sont extracellulaires, localisés dans le système digestif de l’insecte (on parlera alors aussi de microbiote intestinal) ou dans des cavités associées à son système digestif. Ils peuvent par exemple fournir à leur hôte des nutriments, mais aussi contribuer à la dégradation de polymères ou à la détoxification de molécules de défense des plantes ingérées par les insectes phytophages. Il existe également des endosymbiotes intracellulaires, désignés sous le terme d’endocytobiotés, vivant dans le cytoplasme des cellules de leur hôte. Dans la suite de ce manuscrit, nous nous focaliserons sur ces symbiotes intracellulaires.

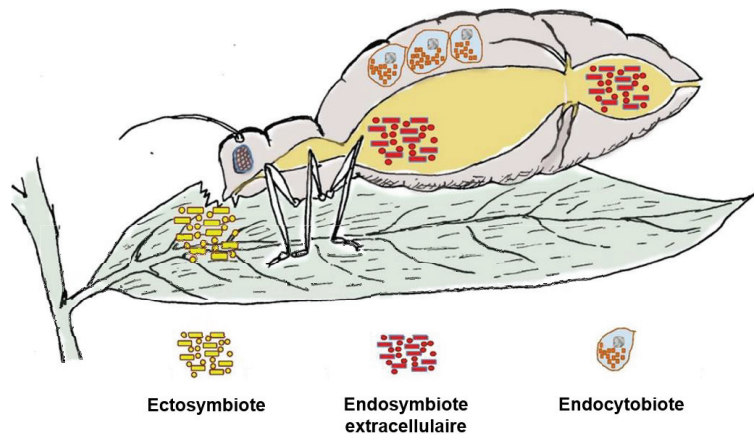


Figure 1. Aperçu schématique des différentes catégories de symbiotes selon leur localisation par rapport au corps de l'insecte (Adapté de Hansen et Moran, 2014).

1.1. Symbiose primaire

Certains symbiotes intracellulaires sont nécessaires à la survie, au développement et à la reproduction de leur hôte, on les retrouve donc chez tous les individus d'une même espèce. C'est le cas chez les insectes qui se nourrissent de milieux déséquilibrés en nutriments et ne subvenant pas à tous leurs besoins, et qui dépendent obligatoirement de composés fournis par leur partenaire symbiotique, alors qualifié de symbiote 'obligatoire' ou 'primaire' (Moran *et al.*, 2008). Le phloème (la sève élaborée des plantes) est un bon exemple de milieu nutritif déséquilibré. Il est riche en carbohydrates et en acides aminés non-essentiels, mais il ne contient pas une quantité suffisante d'acides aminés essentiels et de vitamines B (**Tableau 1**) pour satisfaire les besoins nutritionnels des métazoaires (ou 'animaux') (*e.g.*, Weibull, 1987; Weibull *et al.*, 1990; Douglas, 1993; Sandström et Pettersson, 1994). En effet, ces derniers ne disposent pas des capacités génétiques pour synthétiser eux-mêmes ces composés *de novo*. Ainsi, la conquête d'une telle niche écologique par les hémiptères phloémophages a été attribuée à l'acquisition de symbiotes primaires, capables de synthétiser (totalement ou en partie) les acides aminés essentiels et vitamines B qui manquent à leurs hôtes (Baumann, 2005; Hansen et Moran, 2014; Douglas, 2017). On trouve également des symbiotes nutritionnels fournissant des acides aminés essentiels et certaines vitamines chez les fourmis charpentières omnivores (Feldhaar *et al.*, 2007), des vitamines B chez la mouche Tsé-Tsé (Akman *et al.*, 2002) et la punaise de lit (Hosokawa *et al.*, 2010) qui se nourrissent du sang des vertébrés, et des acides aminés individuels chez certains coléoptères se nourrissant de céréales (Charles *et al.*, 1997; Vigneron *et al.*, 2014). Les coléoptères qui se nourrissent de pollen semblent également être dépendants de symbiotes primaires, bien que les fonctions nutritionnelles de ces derniers ne soient pas encore connues (Weiss et Kaltenpoth, 2016). En plus de produire des acides aminés essentiels et des vitamines pour leur hôte, certains symbiotes obligatoires interviennent également dans le

recyclage de l'azote, un processus essentiel chez les insectes qui se nourrissent principalement de matières végétales pauvres en acides aminés, comme les blattes (Sabree *et al.*, 2009; Patino-Navarete *et al.*, 2014) ou les termites (Bandi *et al.*, 1995).

Tableau 1. Liste des acides aminés (essentiels, non-essentiels) et des vitamines B essentiels aux animaux.

Acides aminés ^a		Vitamines B ^b
Essentiels	Non-essentiels	
Arginine	Alanine	B1 (thiamine)
Histidine	Asparagine	B2 (riboflavine)
Isoleucine	Aspartate	B3 (niacine)
Leucine	Cystéine	B5 (pantothénate)
Lysine	Glutamine	B6 (pyridoxine)
Méthionine	Glutamate	B8 (biotine)
Phénylalanine	Glycine	B9 (folate)
Thréonine	Proline	B12 (cobalamines)
Tryptophane	Serine	
Valine	Tyrosine	

^a Un acide aminé est considéré comme essentiel s'il ne peut pas être synthétisé *de novo* par l'organisme. Il doit donc faire l'objet d'un apport par l'alimentation ou par une autre source, telle qu'un micro-organisme. A ce titre, les huit vitamines B sont également considérées comme essentielles chez les métazoaires.

^b Les huit vitamines B sont communément désignées par un chiffre de 1 à 12. Les nombres omis correspondent à des composés désignés par erreur comme étant des vitamines.

La distribution des symbiotes primaires dans le corps de leur hôte est restreinte au cytoplasme de cellules spécialisées, les bactériocytes, qui peuvent dans certains cas se regrouper et former des organes, les bactériomes, localisés dans l'abdomen de l'insecte (Baumann, 2005). Les bactériocytes sont le siège d'échanges nutritifs importants entre les symbiotes primaires et leur hôte. En effet, si le symbiote primaire fournit des éléments essentiels à la survie de son hôte, il est entièrement dépendant des nutriments et précurseurs métaboliques que l'insecte met à sa disposition (par exemple, des acides aminés non-essentiels, des nucléotides, des nucléosides ...) (Douglas, 2014).

Les symbiotes primaires sont transmis uniquement de manière 'verticale', de la mère à ses descendants, principalement par voie transovarienne et selon différentes modalités en fonction des associations symbiotiques (pour une revue, voir Szklarzewicz et Michalik, 2017). Par exemple, certains symbiotes envahissent très précocement des cellules germinales indifférenciées (Buchner, 1965), tandis que d'autres pénétreront les ovocytes à des stades plus ou moins matures (Buchner, 1965), ou les embryons, comme c'est le cas chez les pucerons vivipares se reproduisant par parthénogénèse (Szklarzewicz et Michalik, 2017). Cette transmission verticale stricte et obligatoire permet d'assurer de la transmission de ces symbiotes primaires à l'hôte. Elle résulte en une congruence parfaite entre les phylogénies des deux

partenaires, c'est-à-dire que leur arbres phylogénétiques sont superposables (Moran *et al.*, 2008, Hansen et Moran, 2014). Certaines symbioses, comme celle entre *Buchnera aphidicola* et les pucerons durent depuis plus de 180 millions d'années (Ma) (Moran *et al.*, 2008) (**Figure 2**).

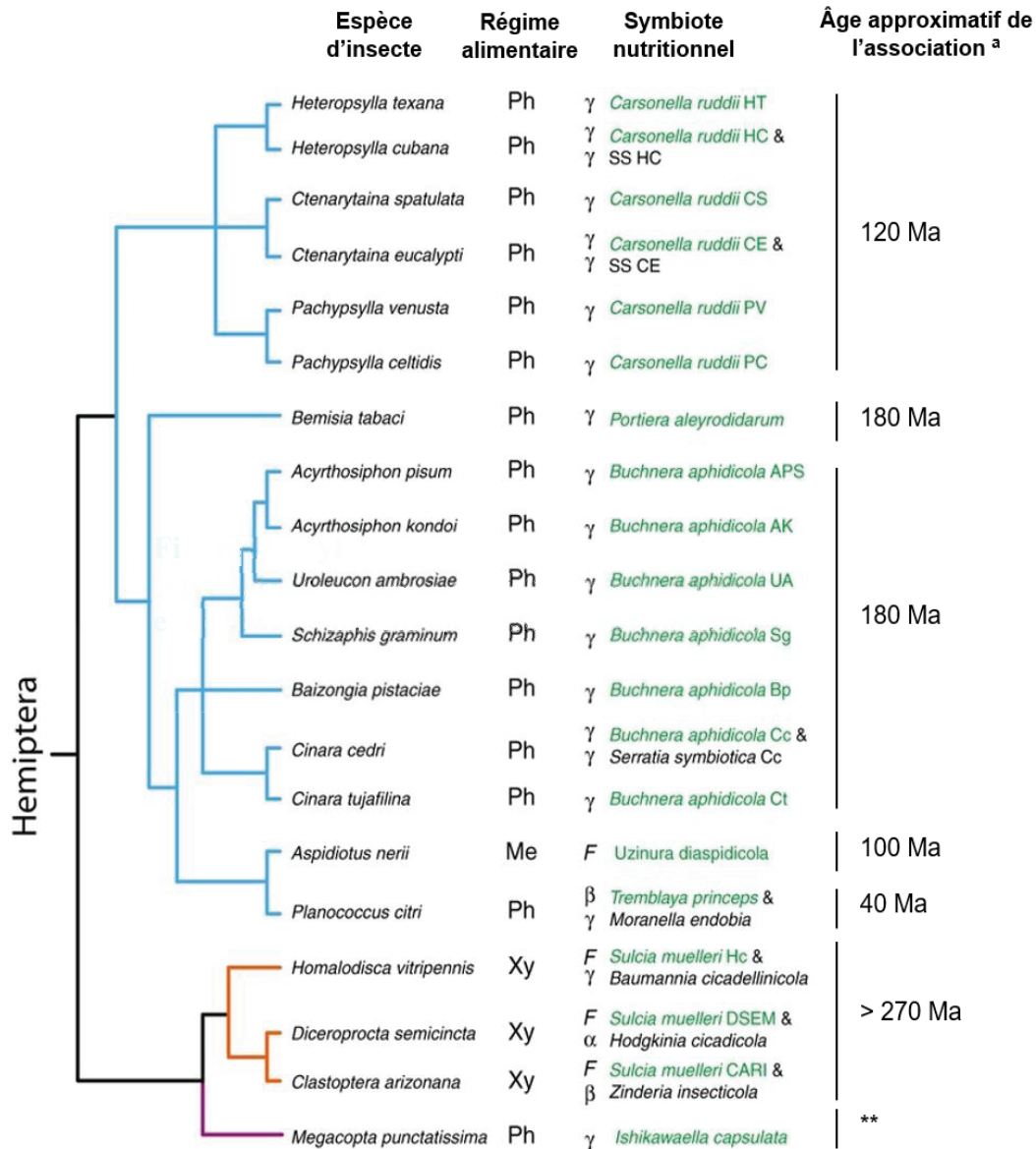


Figure 2. Phylogénie d'espèces représentatives des hémiptères phytophages et de leurs symbiotes primaires nutritionnels. Les branches bleues représentent le sous-ordre Sternorrhyncha, les branches oranges représentent le sous-ordre Auchenorrhyncha et la branche violette représente le sous-ordre des Heteroptera. Régime alimentaire : Ph, phloème ; Me, mésophylle ; Xy, xylème. Symbiote nutritionnel (en vert : symbiote primaire, en noir : symbiote co-primaire) : γ , Gammaprotéobactérie ; β , Betaprotéobactérie ; α , Alphaprotéobactérie ; *F*, Flavobacterales. ^a L'âge de l'association est donné pour les symbiotes primaires (en vert) en millions d'années (Ma) ; ** Pas de données fossiles disponibles (Adapté de Hansen et Moran, 2014).

1.2. Symbiose secondaire

Contrairement aux symbiotes primaires, certains symbiotes ne sont pas nécessaires au développement, à la survie et à la reproduction de leur hôte. Ces symbiotes ‘facultatifs’ ou ‘secondaires’ ne sont généralement pas rencontrés de manière systématique chez tous les individus d’une même population, ou dans toutes les populations d’une même espèce.

1.2.1. Tropisme tissulaire et modes de transmission

Le tropisme tissulaire des symbiotes secondaires est plus varié que celui des symbiotes primaires. Ils peuvent être rencontrés à l’état intracellulaire dans divers les tissus germinaux et somatiques (y compris dans les bactériocytes), ou dans le milieu extracellulaire de l’hôte (l’hémolymph) (Zchori-Fein et Bourtzis, 2012). Par exemple, chez différentes espèces de drosophiles (*Drosophila* sp.) et de moustiques (*Aedes albopictus* et *Culex pipiens*), le symbiote secondaire *Wolbachia pipientis* peut être rencontré dans les ailes, le cerveau, le corps gras, les glandes salivaires, les muscles, les testicules, la tête, le thorax, le tube digestif et/ou les ovaires des insectes (Dobson *et al.*, 1999).

Le mode de transmission des symbiotes secondaires est principalement vertical, de la mère à ses descendants, mais ils peuvent également être transmis horizontalement, entre individus conspécifiques ou d’espèces différentes. Si l’infection se maintient et forme une association stable chez la femelle, le symbiote pourra ensuite être transmis verticalement aux générations suivantes. Ce second mode de transmission est caractérisé par une congruence limitée ou totalement absente entre la phylogénie de l’hôte et celle du symbiote (Moran *et al.*, 2008). La transmission horizontale peut être directe, lors d’un contact physique entre l’hôte donneur et l’hôte receveur, ou indirecte, par le biais d’un organisme vecteur. La majorité des cas de transmission entre espèces différentes observés en laboratoire concernent des événements de transmission horizontale à travers la chaîne trophique. Par exemple, la plante peut être un vecteur lorsque des insectes phytophages partagent le même site nourricier (pour revue, voir Chrostek *et al.*, 2017). Ainsi, la transmission d’un symbiote via la plante hôte a été observée à plusieurs reprises en conditions de laboratoire, avec la transmission de *Rickettsia* sp. et *Wolbachia* sp. entre aleurodes de la même espèce ou d’espèces différentes (Caspi-Fluger *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2017), de *Cardinium* sp. entre espèces de cicadelles (Gonella *et al.*, 2015), ou plus récemment chez les pucerons, avec la transmission de *Serratia symbiotica* entre pucerons appartenant à l’espèce *Aphis fabae* (Pons *et al.*, 2019). La transmission peut également avoir lieu entre niveaux trophiques, comme par exemple avec la transmission de *Wolbachia* sp.

entre des hyménoptères parasitoïdes, et leurs hôtes, des drosophiles (Vavre *et al.*, 1999). Les insectes parasitoïdes peuvent également être vecteurs lorsqu'ils piquent séquentiellement un hôte infecté par un symbiote, puis un hôte non-infecté facilitant, par exemple, la transmission de *Wolbachia* sp. entre aleurodes (Ahmed *et al.*, 2015), ou d'*Hamiltonella defensa* et *Regiella insecticola* entre pucerons (Gehrer et Vorburger, 2012). Dans la nature, ces événements semblent toutefois être rares et sont notamment contraints par la distance génétique qui sépare l'espèce donneuse et l'espèce receveuse. Plus cette distance est grande, moins les symbiotes sont susceptibles d'établir une infection chez un nouvel hôte, et de produire une association stable (Łukasik *et al.*, 2015; Tzuri *et al.*, 2020).

1.2.2. Diversité des phénotypes induits par les symbiotes secondaires

Comme je l'évoquais précédemment, les symbiotes dépendent des nutriments fournis par leur hôte, ce qui représente donc un coût physiologique permanent pour ce dernier. Ce coût peut notamment se répercuter sur le développement, la survie et/ou la reproduction de l'insecte (Zytynska *et al.*, 2021). Pourtant, les symbiotes secondaires arrivent à se maintenir dans les populations malgré ce coût physiologique. Cela peut être en partie expliqué par le fait que certains symbiotes secondaires manipulent la reproduction de leur hôte de manière à favoriser leur transmission, tandis que d'autres sont des partenaires mutualistes, et/confèrent un bénéfice contrebalançant leur coût physiologique. Un même symbiote peut être un parasite de la reproduction et un mutualiste, cela dépend notamment de l'espèce d'hôte où il est rencontré.

Parasites manipulateurs de la reproduction

La transmission des symbiotes étant essentiellement verticale, de la mère à ses descendants, les hôtes mâles constituent une impasse pour les symbiotes. En effet, lors de la fécondation, le spermatozoïde transmet son noyau, mais pas son cytoplasme. Ce mode de transmission a conduit à la sélection de mécanismes favorisant directement ou indirectement la reproduction des femelles infectées par des symbiotes dits 'manipulateurs de la reproduction', augmentant ainsi leur probabilité de transmission et leur fréquence dans la population d'hôtes d'une génération à l'autre. Quatre catégories de manipulation de la reproduction par des symbiotes ont été caractérisées : la féminisation des mâles, l'induction de la parthénogenèse, le *male-killing* et l'incompatibilité cytoplasmique (Hurst et Frost, 2015). Ces quatre catégories ont été décrites et étudiées en détail avec *Wolbachia*, un symbiote infectant approximativement 40% des arthropodes (Werren *et al.*, 2008) (**Figure 3**). Certaines de ces manipulations ont également été décrites chez d'autres symbiotes bactériens (appartenant notamment aux genres

Arsenophonus, *Cardinium*, *Rickettsia* et *Spiroplasma*) et chez certains virus (Hurst et Frost, 2015). Les trois premiers types de manipulation conduisent à un sex-ratio biaisé en faveur des femelles à la génération suivante : la féminisation entraîne un développement des individus génétiquement mâles en femelles fonctionnelles ; l'infection par un symbiote induisant une parthénogenèse thélytoque induit un mode de reproduction clonal qui ne produit que des femelles ; enfin, le *male-killing* consiste en une dégénérescence des embryons mâles en faveur du développement des embryons femelles. Au contraire, l'incompatibilité cytoplasmique (IC) est un phénomène dans lequel les mâles sont produits et se développent jusqu'à leur maturité sexuelle. Les symbiotes induisant une IC ont un impact lors de la gaméto-genèse des mâles, au cours de laquelle ils modifient les spermatozoïdes, de sorte que lorsqu'ils fécondent des œufs non infectés (IC unidirectionnelle) ou infectés par une souche différente du symbiote (IC bidirectionnelle), la descendance n'est pas viable. Ainsi, les symbiotes induisant une IC apportent un avantage sélectif aux femelles infectées par rapport aux femelles non-infectées, ce qui entraîne l'invasion du symbiote dans la population. Chez les insectes diploïdes, l'IC est caractérisée par la mort des deux sexes (**Figure 3**), et n'est donc pas associée à un biais du sex-ratio. Chez les insectes haplo-diploïdes chez qui les mâles sont haploïdes (issus du développement d'œufs non fécondés), l'IC entraîne un biais du sex-ratio en faveur des mâles, via la mort des individus diploïdes (probablement par la fragmentation des chromosomes entraînant une aneuploïdie) (Breeuwer, 1997; Vavre *et al.*, 2001; Mouton *et al.*, 2005), et/ou leur développement en mâles haploïdes (par élimination du jeu de chromosomes paternels) (Breeuwer et Werren, 1990, Mouton *et al.*, 2005).

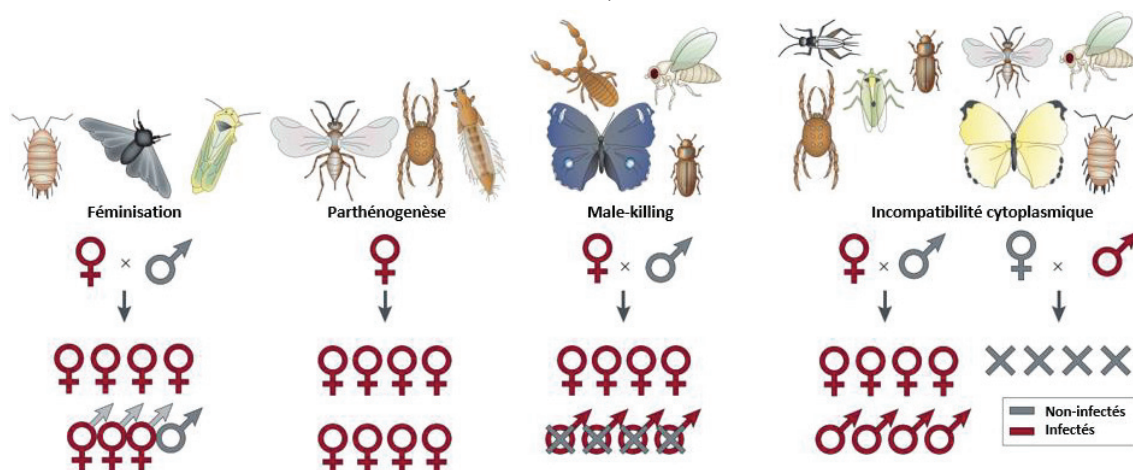


Figure 3. Diversité des phénotypes de manipulation de la reproduction produits par *Wolbachia*. La féminisation entraîne un développement des mâles en femelles. L'induction de la parthénogenèse entraîne une reproduction clonale n'impliquant que des femelles. Le *male-killing* élimine les mâles infectés au profit de la survie de leurs sœurs infectées. L'incompatibilité cytoplasmique empêche les mâles infectés de s'accoupler avec succès avec des femelles ne possédant pas *Wolbachia* (incompatibilité unidirectionnelle) ou la même souche de *Wolbachia* (incompatibilité bidirectionnelle) (adapté de Werren *et al.*, 2008).

Mutualisme

Les symbiotes secondaires peuvent aussi faciliter l'utilisation de certaines espèces de plantes par les insectes phytophages (Frago *et al.*, 2012; Giron *et al.*, 2017). Ce sujet a été particulièrement étudié chez les pucerons. En effet, il a été observé à plusieurs reprises une corrélation positive entre le statut d'infection d'un individu et l'espèce de plante hôte sur laquelle il est observé dans la nature, que ce soit au sein d'une même espèce de puceron (Tsuchida *et al.*, 2002; Leonardo et Muiru, 2003; Tsuchida *et al.*, 2004), ou entre espèces différentes (Henry *et al.*, 2013, 2015). Ces observations ont été corroborées par des données expérimentales. Par exemple, chez le puceron du pois *Acyrtosiphon pisum*, la présence de *R. insecticola* a été associée à la capacité de l'insecte à se reproduire sur le trèfle blanc (*Trifolium repens*) (Tsuchida *et al.*, 2004). Toutefois, il est important de noter que d'autres études n'ont pas mis en évidence une influence de *R. insecticola* sur la capacité d'*A. pisum* à exploiter le trèfle blanc (Leonardo, 2004; Ferrari *et al.*, 2007), et que l'effet précédemment décrit (Tsuchida *et al.*, 2004) semble dépendre du génotype du puceron (Ferrari *et al.*, 2007). Similairement, le symbiote secondaire *Arsenophonus* sp. a été associé à la capacité à utiliser le robinier faux-acacia (*Robinia pseudoacacia*) chez le puceron *Aphis craccivora* (Wagner *et al.*, 2015; Lenhart et White, 2020). Les processus sous-jacents à ces phénomènes peuvent être variés (pour des revues, voir Frago *et al.*, 2012; Giron *et al.*, 2017), mais demeurent souvent inexplorés. Un symbiote secondaire peut, par exemple, réprimer les défenses de la plante hôte comme celles régulées par les acides jasmoniques et salicyliques (Casteel *et al.*, 2012; Su *et al.*, 2015; Shi *et al.*, 2021), ou altérer les besoins nutritifs en acides aminés de son hôte (Tian *et al.*, 2019).

Autres bénéfiques

De nombreux exemples de 'symbioses défensives' ont été décrits chez les insectes, conférant une protection contre des ennemis naturels tels que des virus, nématodes, champignons et guêpes parasitoïdes (pour une revue, voir Florez *et al.*, 2015). L'un des premiers cas décrits de défense procurée par un symbiote chez un insecte concerne la protection contre les guêpes parasitoïdes chez les pucerons. Chez *A. pisum*, la présence d'*H. defensa* compromet le développement du parasitoïde *Aphidius ervi* à l'intérieur du puceron. Cette protection est dépendante de la présence d'un bactériophage (APSE) chez le symbiote, associé à la production de toxines (Oliver *et al.*, 2003). Un symbiote peut également protéger indirectement son hôte. Par exemple, chez *A. pisum*, l'infection par *H. defensa* limite l'émission de composés volatils par la plante lorsque le puceron s'en nourrit, limitant ainsi la probabilité de rencontre entre ce dernier et son parasitoïde (Frago *et al.*, 2017). Il est toutefois important

de noter que le coût physiologique associé aux symbiotes protecteurs peut être supérieur à leurs avantages dans certains contextes écologiques, en raison de la variation de la présence des ennemis naturels dans le temps et dans l'espace (Oliver *et al.*, 2006). Un autre exemple bien connu est celui de certaines souches bactériennes du genre *Wolbachia*, capables de protéger différentes espèces de drosophiles contre certains virus (Teixiera *et al.*, 2008; Cattel *et al.*, 2016; pour revue, voir aussi : Pimentel *et al.*, 2021).

Les symbiotes secondaires peuvent également promouvoir la résistance de l'insecte face à un stress abiotique (par exemple, la température, la sécheresse ou les composés toxiques inorganiques) (Lemoine *et al.*, 2020). La température est un facteur doublement dommageable pour les insectes vivant en symbiose. D'une part, les insectes sont des organismes ectothermes et donc sensibles aux variations de température. D'autre part, leurs symbiotes primaires sont également souvent sensibles à la chaleur, et leur déclin lors d'un stress thermique peut indirectement nuire à l'hôte (Corbin *et al.*, 2017; Renoz *et al.*, 2019). Certains symbiotes secondaires peuvent limiter l'impact de la chaleur. Par exemple, *H. defensa*, *Fukatsuia symbiotica*, *R. insecticola* et *S. symbiotica* ont été associés à une amélioration de la survie et de la reproduction du puceron *A. pisum* à la suite d'un stress thermique (Montllor *et al.*, 2002; Koga *et al.*, 2003; Russell et Moran, 2006; Burke *et al.*, 2010; Heyworth *et al.*, 2020).

Modifications comportementales

Les symbiotes peuvent influencer de multiples aspects du comportement de leur hôte, notamment des fonctions liées à sa reproduction et son alimentation, ce qui pourrait avoir d'importantes conséquences pour son écologie et son évolution. Ces questions ont principalement été étudiées dans le cadre des interactions hôte-parasite (Poulin, 2010; Lewis et Lize, 2015; Heil, 2016; Vale *et al.*, 2018). De nombreux parasites induisent des changements de comportement de leur hôte, améliorant leur propre probabilité de transmission et/ou de survie, ce que l'on appelle la « manipulation parasitaire » (Poulin, 2010; Lewis et Lize, 2015; Heil, 2016). Alternativement, un changement de comportement peut être une réponse adaptative de l'hôte à la présence de parasites, réponse qui bénéficie à l'hôte en limitant l'impact de l'infection (Vale *et al.*, 2018). De récentes observations indiquent que les symbiotes mutualistes ou commensaux peuvent aussi modifier le comportement de leur hôte (Hosokawa et Fukatsu, 2020).

Divers exemples de modifications du comportement reproducteur ont été associés à l'infection par des symbiotes manipulateurs de la reproduction (pour des revues, voir Goodacre et Martin, 2012; Lewis et Lize, 2015). Par exemple, l'infection par *Wolbachia* sp. a été associée à une augmentation du taux d'accouplement des mâles drosophiles *D. melanogaster* et *D. simulans* (Champion de Crespigny *et al.*, 2006). Chez ces espèces, *Wolbachia* sp. induit une incompatibilité cytoplasmique unidirectionnelle. Toutefois, cette incompatibilité cytoplasmique est moins forte chez les mâles non-vierges que chez les mâles vierges. Ainsi, il a été suggéré qu'un taux élevé d'accouplement profite aux mâles drosophiles infectés, en limitant l'impact de l'infection par *Wolbachia* sp., et en améliorant leur succès reproductif (Champion de Crespigny *et al.*, 2006). Au sein du complexe d'espèces *D. paulistorum*, l'infection par *Wolbachia* sp. influence le choix de la femelle pour un partenaire sexuel hébergeant la même souche de la bactérie (Miller *et al.*, 2010; Schneider *et al.*, 2019). Il est possible que cette homogamie positive ait évolué de manière à éviter l'incompatibilité cytoplasmique bidirectionnelle induite par *Wolbachia* sp. lors du croisement entre drosophiles hébergeant des souches différentes (Miller *et al.*, 2010). Ce comportement pourrait aussi être une manipulation par le symbiote de manière à maximiser sa transmission verticale, ou une réponse adaptative de l'hôte évitant les partenaires incompatibles. Il a été proposé que ces phénomènes reposent directement sur la modification du profil phéromonal de l'hôte par ses partenaires symbiotiques (Miller *et al.*, 2010; Schneider *et al.*, 2019).

Plusieurs études récentes indiquent également que l'infection par un symbiote secondaire peut altérer le comportement alimentaire des hémiptères phloémophages. Chez ces insectes, la phase d'ingestion du phloème est précédée d'une série de ponctions cellulaires réalisées à l'aide de leur stylet (Powell *et al.*, 2006). Ces ponctions permettent à l'insecte d'explorer les tissus de la plante sur laquelle il se trouve et d'évaluer s'il s'agit d'un hôte approprié pour l'alimentation. Chez le puceron *Aphis craccivora*, l'infection par *H. defensa* entraîne une réduction du nombre de ponctions réalisées (Angelella *et al.*, 2018). A l'inverse, l'infection par *Arsenophonus* sp. chez ce même insecte, et *H. defensa* chez le puceron *Rhopalosiphum padi*, sont associées à des ponctions cellulaires plus fréquentes (Angelella *et al.*, 2018; Leybourne *et al.*, 2020). Par ailleurs, l'infection par *H. defensa* chez *R. padi* (Leybourne *et al.*, 2020), et par *Cardinium hertigii* chez l'aleurode *B. tabaci* (Ying *et al.*, 2021) entraîne des phases d'ingestion du phloème moins fréquentes et moins longues. L'origine et les conséquences de ces phénomènes pour l'hôte et ses symbiotes ne sont généralement pas connues, mais il semblerait que les modifications du comportement alimentaire associées à

l'infection par *H. defensa* soient coûteuses en termes de croissance (gain de masse corporelle) pour *R. padi* lorsqu'il se nourrit sur l'orge sauvage (*Hordeum spontaneum*), mais pas sur l'orge commune (*H. vulgare*) (Leybourne *et al.*, 2020). *H. defensa* et *R. insecticola* semblent également avoir une influence, bien que marginale, sur la sélection de la plante hôte par le puceron *A. pisum* (Sochard, Dupont, *et al.*, 2021; Sochard, Le Floch, *et al.*, 2021).

Enfin, les symbiotes semblent pouvoir interférer sur les comportements impliqués dans les relations entre organismes. Par exemple, les symbiotes protecteurs *H. defensa* et *R. insecticola* ont été associés à une diminution des comportements de fuite et de défense (agressivité, coups de pattes) du puceron *A. pisum* contre les insectes parasitoïdes (Dion *et al.*, 2011; Polin *et al.*, 2014; Sochard, Bellec, *et al.*, 2021). La diminution de ces comportements de fuite et de défense, inutiles en présence d'un symbiote protecteur, pourrait représenter une économie d'énergie pour l'hôte et son symbiote (Dion *et al.*, 2011). En revanche, il les expose davantage aux prédateurs, contre qui ces symbiotes n'apportent pas de protection (Polin *et al.*, 2014).

Le plus souvent, les mécanismes sous-jacents à ces modifications ne sont pas connus, mais des études réalisées sur un large spectre de microorganismes suggèrent que ces derniers pourraient altérer le comportement de leur hôte : directement, par la production de molécules interagissant directement avec le système nerveux de l'hôte (Shropshire et Bordenstein, 2016; Lynch et Hsiao, 2019), ou indirectement, en modifiant le métabolisme, le système immunitaire, le système endocrinien ou encore la production de phéromones qui, en fin de compte, influencent le système nerveux de l'hôte (Shropshire et Bordenstein, 2016; Engl et Kaltenpoth, 2018; Lynch et Hsiao, 2019).

1.3. Evolution des génomes des symbiotes intracellulaires

1.3.1. Vie intracellulaire et réduction génomique

Le mode de vie intracellulaire n'est pas sans conséquences sur l'évolution des symbiotes, puisqu'il est associé à des processus facilitant l'accumulation de mutations délétères chez ces derniers (Moran, 1996; Wernegreen, 2015). La stabilité et la composition de leur environnement entraînent un relâchement important de certaines pressions de sélection, par exemple, celles s'exerçant sur les gènes impliqués dans synthèse de l'enveloppe cellulaire (McCutcheon et Moran, 2012; Moran et Bennett, 2014). La dérive joue également un rôle important, notamment en raison du goulot d'étranglement qui survient à chaque génération lors

de leur transmission verticale (seule une fraction de la population de symbiotes est transmise de la mère à ses descendants) (Wernegreen, 2015). De plus, la probabilité de recombinaisons et de transferts horizontaux de gènes entre bactéries est limitée dans ce milieu confiné (Moran, 1996; Wernegreen, 2015). En conséquence, les symbiotes peuvent perdre des gènes devenus redondants avec l'hôte ou d'autres symbiotes, ou encore ceux devenus inutiles dans cet environnement stable et protégé. Ces pertes ne sont donc pas aléatoires et les symbiotes conservent généralement les gènes impliqués dans des processus essentiels à la physiologie bactérienne, comme la traduction, la réplication et la transcription (McCutcheon et Moran, 2012; Moran et Bennett, 2014). Ils conservent également les gènes importants pour leur fonction symbiotique, qui sont le plus souvent impliqués dans la production de métabolites pour l'insecte hôte (McCutcheon et Moran, 2012; Moran et Bennett, 2014). Chez le puceron du pois *A. pisum*, par exemple, 10% du génome du symbiote primaire *B. aphidicola* est consacré à la biosynthèse d'acides aminés essentiels à l'insecte, contre seul 2% chez la bactérie de forme libre la plus proche phylogénétiquement, *Escherichia coli* (Shigenobu *et al.*, 2000).

Ainsi, la taille des génomes des symbiotes intracellulaires est grandement réduite (moins de 1,5 Mb en moyenne pour les symbiotes primaires) en comparaison aux bactéries de forme libre (Moran et Bennett, 2014), qui ont des tailles génomiques généralement comprises entre 2 et 6 Mb (**Figure 4A**). Le plus petit génome bactérien répertorié est celui de *Nasuia deltocephalinicola*, symbiote primaire de la cicadelle de l'aster, *Macrosteles quadrilineatus* (Auchenorrhyncha : Cicadellidae), une association qui dure depuis plus de 200 Ma. Son génome ne fait que 112 kb et possède 137 gènes (Bennett et Moran, 2013). La réduction de la taille génomique a notamment des effets importants sur les capacités de régulation de ces génomes, qui possèdent souvent un répertoire restreint de gènes codant des régulateurs transcriptionnels et des régions régulatrices réduites (Viñuelas *et al.*, 2007; Brinza *et al.*, 2013).

Ce phénomène de réduction génomique dépend de l'âge de l'association et du caractère obligatoire (ou non) du symbiote. Ainsi, les symbiotes acquis plus récemment présenteront des génomes de taille plus importante que les symbiotes acquis plus anciennement (**Figure 4A**). Par exemple, *Sodalis pierantonius*, le symbiote primaire des charançons des céréales *Sitophilus oryzae*, acquis relativement récemment (moins de 0,03 Ma) suite à un remplacement symbiotique, possède un génome d'une taille comparable à celui de bactéries libres (4,51 Mb) (Oakeson *et al.*, 2014). Les premiers stades de la réduction du génome sont caractérisés par une prolifération d'éléments mobiles (éléments transposables, phages, plasmides), la formation de pseudogènes (gènes ayant accumulé des mutations et qui ne sont donc plus fonctionnels), des

réarrangements génomiques et la suppression de fragments de chromosomes. Au contraire, chez les symbiotes plus anciens, la plupart des éléments mobiles et pseudogènes auront été éliminés (Moran et Bennett, 2014) (**Figure 4B**). Les symbiotes secondaires possèdent généralement des caractéristiques propres aux génomes aux premiers stades de la réduction génomique, mais cette situation peut évoluer si le symbiote s'intègre plus fortement avec le temps dans l'association avec son hôte (symbiote secondaire devenant co-primaire).

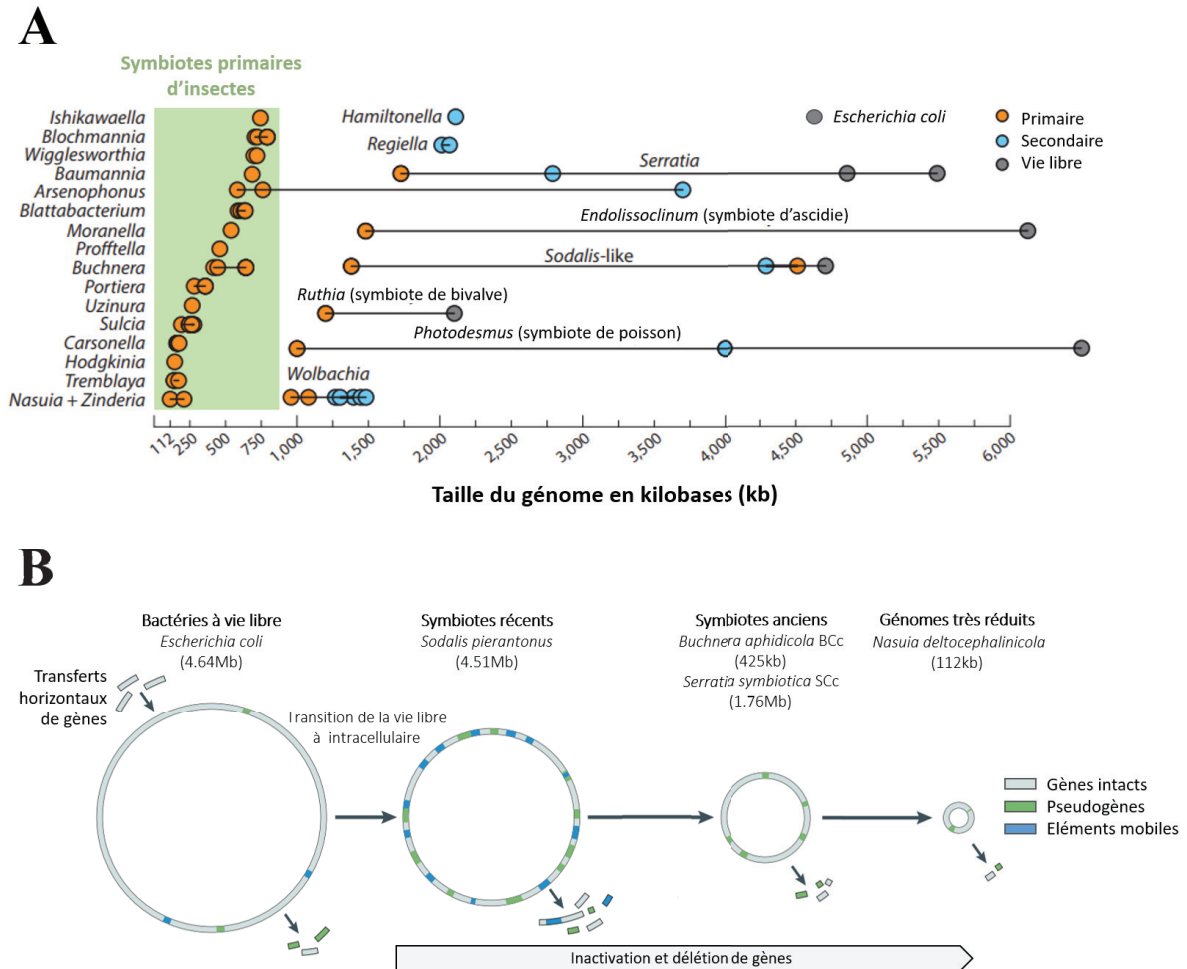


Figure 4. Réduction génomique des symbiotes lors de la transition de la vie libre à intracellulaire. (A) Comparaison de la taille des génomes de bactéries symbiotiques primaires (en orange), secondaires (en bleu) ou à vie libre (en gris) (Adapté de Moran et Bennett, 2014). (B) Représentation schématique des différents stades de réduction génomique des symbiotes lors du passage de la vie libre à la vie intracellulaire (Kb : Kilobases ; Mb : Mégabases) (Adapté de McCutcheon et Moran, 2012).

1.3.2. Complémentation métabolique

Bien que la pression de sélection sur les gènes essentiels au métabolisme symbiotique chez les symbiotes primaires soit importante, en cas de perte de ces fonctions nutritives, un nouveau partenaire symbiotique, initialement secondaire, peut pallier cette perte. Ce symbiote

pourra alors réaliser l'intégralité d'une voie métabolique perdue chez le symbiote primaire ou compléter les lacunes d'une voie partiellement dégradée (e.g., Gosalbes *et al.* 2008 ; pour une revue, lire aussi Gil et Latorre, 2019). Dans ce second cas, la biosynthèse *de novo* d'un métabolite ne dépend alors plus d'un seul, mais de l'action complémentaire des deux symbiotes. Lorsque qu'ils sont tous deux nécessaires à la survie de l'hôte, deux symbiotes sont alors qualifiés de 'co-obligatoires' ou 'co-primaires' (Lamelas *et al.*, 2011).

L'une des premières associations multi-partenaires impliquant deux bactéries co-primaires a été celle découverte chez le puceron *Cinara cedri*. Chez ce puceron, le symbiote primaire, *B. aphidicola*, est systématiquement accompagné d'un autre symbiote intracellulaire : *Serratia symbiotica* (Gómez-Valero *et al.*, 2004). Les analyses génomiques ont montré que *B. aphidicola* et *S. symbiotica* coopèrent afin d'assurer la biosynthèse du tryptophane, un acide aminé essentiel au puceron, qui est incapable de le produire (Gosalbes *et al.*, 2008; Lamelas *et al.*, 2011). En effet, *S. symbiotica* possède les gènes de la voie de biosynthèse du tryptophane perdus chez *B. aphidicola* (gènes *TrpDCBA*). A l'inverse, *S. symbiotica* a perdu les deux premiers gènes de cette voie (gènes *TrpEG*), préservés chez *B. aphidicola* (**Figure 5**). Ainsi, *B. aphidicola* assure la synthèse de l'anthranilate, utilisé comme précurseur par *S. symbiotica* pour produire le tryptophane, qui sera ensuite distribué aux trois partenaires symbiotiques : le puceron et ses deux symbiotes (Gosalbes *et al.*, 2008; Lamelas *et al.*, 2011) (**Figure 5**). Chez *C. cedri*, *S. symbiotica* est aussi nécessaire afin d'assurer la biosynthèse de la vitamine B2, la riboflavine. La même situation existe chez le puceron *Tuberolachnus salignus*, qui dépend de la coopération entre *B. aphidicola* et *S. symbiotica* pour la biosynthèse du tryptophane, et de *S. symbiotica* pour la biosynthèse de la riboflavine (Manzano-Marín *et al.*, 2016). De plus, des analyses de génomique comparative réalisées sur les *B. aphidicola* provenant de 19 espèces de pucerons de la même sous-famille que *C. cedri* et *T. salignus* (les Lachninae) ont révélé une perte ancestrale de la voie de biosynthèse de la riboflavine chez ces symbiotes primaires (Manzano-Marín *et al.*, 2017). Par la suite, une étude menée sur 128 espèces de pucerons de la sous-famille des Lachninae a révélé que ces pucerons possèdent tous un symbiote co-primaire, principalement *S. symbiotica*, pour compléter les gènes perdus chez leurs *B. aphidicola* (Meseguer *et al.*, 2017). Similairement, chez le puceron du bananier *Pentalonia nigronervosa* (sous-famille Aphidinae), les gènes impliqués dans les voies de biosynthèse de la lysine et de la riboflavine sont partagés entre *B. aphidicola* et *Wolbachia* sp., ce qui rend les deux bactéries indispensables à la survie de l'hôte (De Clerck *et al.*, 2015).

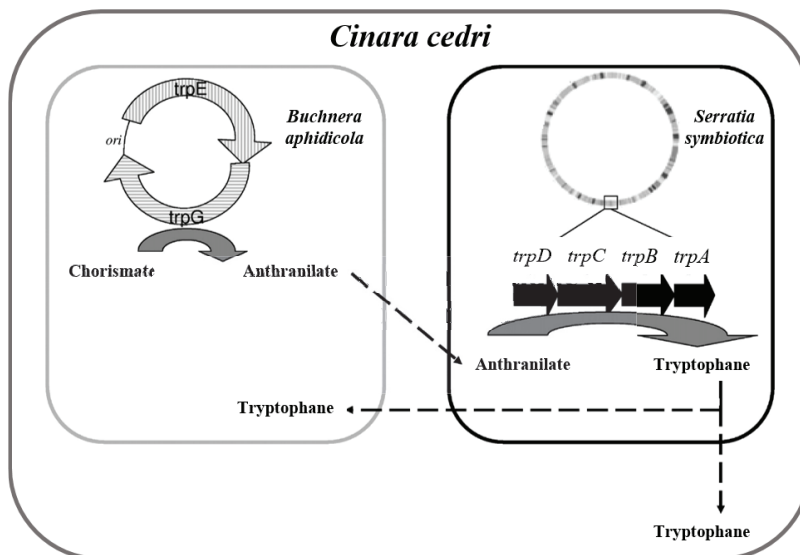


Figure 5. Représentation schématique de la biosynthèse du tryptophane chez *Cinara cedri*. *Buchnera aphidicola* assure la production d'anthranilate, qui est utilisé comme précurseur par *Serratia symbiotica* pour compléter la voie. Les flèches en pointillés représentent les flux métaboliques (Modifié d'après Gosalbes *et al.* 2008).

Ces complémentations métaboliques entre symbiotes ont également été décrites plusieurs fois chez les hémiptères appartenant au sous-ordre des Sternorrhyncha, comme chez les psylles (famille Psylloidae) (Sloan et Moran, 2012b) ou les aleurodes (famille Aleyrodidae) (Rao *et al.*, 2015). Elles sont quasiment systématiques, chez certains clades d'hémiptères appartenant au sous-ordre des Auchenorrhyncha, comme les cicadelles et leurs apparentés, chez qui le symbiote primaire *Sulcia* a presque toujours été décrit accompagné d'un et parfois de deux symbiotes co-primaires, formant ainsi des symbioses nutritionnelles tri- ou quadripartites (pour une revue, lire Gil et Latorre, 2019). Des associations encore plus surprenantes et complexes de symbioses imbriquées en 'poupées russes' ont évolué chez les cochenilles (Sternorrhyncha : Pseudococcidae) de la sous-famille des Pseudococcinae. L'exemple le plus connu est celui de *Planococcus citri*, chez qui le symbiote primaire *Tremblaya princeps*, une β -protéobactérie, possède son propre symbiote primaire intracellulaire, *Moranella endobia*, une γ -protéobactérie. Les deux symbiotes se complètent pour fournir des acides aminés essentiels à leur hôte (McCutcheon et von Dohlen, 2011).

Dans cette première partie introductive, nous avons vu que la symbiose pouvait être dynamique, et que l'acquisition d'un nouveau partenaire symbiotique pouvait être associée à des changements rapides dans les traits phénotypiques de l'hôte. Ces changements peuvent permettre aux insectes de faire face à de nouvelles conditions environnementales, ou d'exploiter de nouvelles niches écologiques, comme par exemple, de nouvelles espèces de plantes. Les symbiotes peuvent également interférer avec la reproduction de son hôte, et notamment son choix de partenaire sexuel. Ces modifications pourraient avoir d'importantes conséquences pour l'évolution de l'hôte, et notamment contribuer à la diversification et à la spéciation des insectes, une hypothèse que nous allons développer dans la seconde partie de cette introduction.

2. La symbiose comme moteur de diversification et de spéciation

De nouvelles espèces d'organismes sexuellement reproductibles se forment lorsque des barrières au flux de gènes émergent entre des populations d'une espèce initiale (Seehausen *et al.*, 2014). Ces barrières peuvent prendre des formes variées, et intervenir avant ou après la formation du zygote, entraînant un isolement reproductif pré- ou post-zygotique des populations (Seehausen *et al.*, 2014). Les études visant à décrire les processus sous-jacents à l'émergence de l'isolement reproductif ont principalement porté sur l'adaptation écologique divergente (Schluter, 2001; Bird *et al.*, 2012), la sélection sexuelle (Panhuis *et al.*, 2001) et les incompatibilités génomiques intrinsèques (Seehausen *et al.*, 2014). L'idée que la symbiose puisse également être un moteur de diversification et de spéciation a été évoquée dès 1927 par Ivan E. Wallin dans son livre *Symbioticism and the Origin of Species* (Wallin, 1927). Faute de cas documentés, cette hypothèse n'a toutefois reçu que peu de considération et a été pendant longtemps considérée comme trop spéculative (Brucker et Bordenstein, 2012). Cependant, cette hypothèse a regagné en importance ces deux dernières décennies, avec un nombre grandissant de découvertes indiquant que les symbiotes peuvent contribuer à l'isolement reproductif entre hôtes ne partageant pas le même statut d'infection (Brucker et Bordenstein, 2012; Vavre et Kremer, 2014; Shropshire et Bordenstein, 2016).

2.1. Symbiose et isolement reproductif pré-zygotique

Comme exposé précédemment (partie 1.2.2 de cette introduction), des changements dans la composition du cortège symbiotique ont été associés à des changements dans les traits phénotypiques et comportementaux de l'hôte. A ce titre, les symbiotes ont été qualifiés de 'boîte à outil' génétique (Hendry *et al.*, 2014), permettant aux insectes de faire face à nouvelles conditions environnementales ou d'exploiter différentes niches écologiques, comme différentes espèces de plante hôte. Or, l'adaptation aux conditions locales et la spécialisation de niche peuvent limiter le flux de gènes entre les populations (Schluter, 2001; Bird *et al.*, 2012). Ainsi, la symbiose pourrait contribuer à l'émergence d'un isolement reproductif pré-zygotique lorsque les symbiotes sont impliqués dans l'adaptation et le choix de niche et si l'accouplement a lieu dans cette même niche, comme c'est le cas par exemple chez le puceron du pois *A. pisum*. Cette espèce regroupe différents 'biotypes', constitués de populations spécialisées sur un nombre restreint de plantes hôtes sur lesquelles a lieu l'accouplement (Peccoud *et al.*, 2009, 2015). Cette spécialisation se traduit par la manifestation d'une préférence des biotypes pour leur plante de prédilection, et une meilleure performance des pucerons sur cette dernière (Caillaud et Via,

2000). Ces phénomènes entraînent une ségrégation spatiale des individus, et une contre sélection des migrants, limitant ainsi les échanges génétiques entre biotypes et favorisant leur différenciation (Peccoud *et al.*, 2009, 2015).

L'infection par un symbiote peut également s'accompagner de modifications phénotypiques qui ne sont pas liées à l'adaptation à la niche écologique, mais qui peuvent aussi contribuer à l'isolement pré-zygotique. C'est le cas lorsque des individus manifestent une préférence pour un partenaire sexuel partageant le même statut d'infection symbiotique (c'est-à-dire, l'homogamie positive, Panhuis *et al.*, 2001). C'est le cas par exemple chez le complexe d'espèces *D. paulistorum* évoqué précédemment, chez qui les femelles préfèrent s'accoupler avec un partenaire possédant la même souche de la bactérie *Wolbachia* (Miller *et al.*, 2010; Schneider *et al.*, 2019), ou chez les drosophiles *D. melanogaster* préférant les partenaires possédant un microbiote intestinal similaire (Sharon *et al.*, 2010).

2.2. Symbiose et isolement reproductif post-zygotique

Les symbiotes pourraient contribuer à l'émergence d'un l'isolement reproductif post-zygotique par des mécanismes affectant la viabilité ou la stérilité des descendants de parents ne partageant pas le même statut d'infection (Brucker et Bordenstein, 2012; Vavre et Kremer, 2014). Ainsi, certains symbiotes manipulateurs de la reproduction peuvent limiter le flux de gènes entre populations, comme c'est le cas par exemple de *Wolbachia* lorsque cette bactérie induit une incompatibilité cytoplasmique bidirectionnelle.

Les symbiotes pourraient aussi participer à l'évolution d'un isolement reproductif post-zygotique de manière un peu plus indirecte. En effet, dans l'hypothèse où la sélection exercée sur les interactions entre l'hôte et ses symbiotes entraîne des coadaptations locales (c'est-à-dire, au sein d'une population donnée), la rupture de ces coadaptations pourrait affecter la viabilité ou la stérilité des hybrides (Brucker et Bordenstein, 2012; Vavre et Kremer, 2014). Par exemple, il a été montré chez le complexe d'espèces *D. paulistorum* que les mâles issus des croisements entre parents infectés par différentes souches de *Wolbachia* induisant une incompatibilité cytoplasmique bidirectionnelle (>90% de mortalité embryonnaire), étaient stériles. Cette stérilité des mâles hybrides a été associée à une prolifération de *Wolbachia* dans leur gonades (Miller *et al.*, 2010). Similairement, la forte mortalité des hybrides issus du croisement entre différentes espèces du genre *Nasonia* a été associée à une altération de la composition de leur microbiote intestinal (Brucker et Bordenstein, 2013). De manière très élégante, Brucker et Bordenstein (Brucker et Bordenstein, 2013) ont montré qu'un traitement antibiotique de ces

hybrides interspécifiques améliore significativement leur survie. A l'inverse, l'inoculation d'un nouveau microbiote chez des hybrides préalablement traités aux antibiotiques rétablit la mortalité précédemment observée. Dans ces deux exemples, il a été proposé que la prolifération des symbiotes ou l'altération du microbiote soit due à la perturbation des interactions génétiques impliquées dans le contrôle de ces derniers par leur hôte (Miller *et al.*, 2010; Brucker et Bordenstein, 2013).

Enfin, l'isolement reproductif post-zygotique associé à un symbiote peut faciliter l'évolution d'autres formes d'isolement reproductif, comme la sélection de comportements d'homogamie positive par le processus de renforcement. Par exemple, il a été suggéré que l'incompatibilité cytoplasmique unidirectionnelle induite par *Wolbachia* ait favorisé l'évolution d'une préférence pour les partenaires sexuels non infectés chez la drosophile *Drosophila subquinara* (Jaenike *et al.*, 2006). Similairement, l'incompatibilité cytoplasmique bidirectionnelle induite par *Wolbachia* chez le complexe d'espèces *D. paulistoraum* pourrait avoir favorisé l'évolution d'une préférence pour un partenaire sexuel infecté par la même souche du symbiote (Miller *et al.*, 2010; Schneider *et al.*, 2019).

Dans cette seconde partie introductive, nous avons vu que des variations dans la composition des communautés de symbiotes entre individus pouvaient être associées à des barrières pré- et post-zygotiques. Ces observations suggèrent que les symbiotes pourraient contribuer à la diversification et à la spéciation de leurs hôtes. Ce pourrait être notamment le cas lorsque qu'un symbiote interfère avec la capacité de son hôte à exploiter différentes niches écologiques, comme par exemple, différentes espèces de plantes chez un insecte phytophage. Toutefois, il existe encore peu de démonstrations empiriques de ces phénomènes.

3. Modèle d'étude : *Bemisia tabaci*

3.1. Un complexe d'espèces très diversifié

Bemisia tabaci (Gennadius 1889), autrement appelé 'aleurode du tabac' ou 'aleurode de la patate douce', est un insecte de l'ordre des hémiptères, appartenant à la famille des Aleyrodidae (Hemiptera : Sternorrhyncha), qui regroupe plus de 1500 espèces réparties en 210 genres (Martin et Mound, 2007). *B. tabaci* est insecte piqueur-suceur polyphage qui se nourrit de la sève phloémienne de plus de 600 espèces de plantes agricoles et ornementales (Oliveira *et al.*, 2001). D'origine tropicale et subtropicale, il a été classé parmi les 100 espèces les plus invasives au monde par l'IUCN (*International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources*, <http://www.issg.org>). Son expansion géographique depuis son aire géographique d'origine (l'Afrique ou la péninsule Indienne, ce point n'est pas résolu) a été facilitée par la mondialisation depuis la fin des années 1970. Cette expansion a été associée à la rapide diversification de *B. tabaci* en complexe d'espèces cryptiques morphologiquement indiscernables. Aujourd'hui, on retrouve cet insecte dans des climats tropicaux ou tempérés, en serre ou en plein champ, sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique (Oliveira *et al.*, 2001).

3.1.1. Cycle biologique

Le cycle biologique de *B. tabaci* est composé de six stades de développement : l'œuf (0,1mm), quatre stades larvaires (L1, L2, L3, L4) (0,1-0,5mm) et l'adulte (1mm) (Byrne et Bellows, 1991) (**Figure 6**). On retrouve ces six stades chez tous les membres du complexe d'espèces *B. tabaci* (et plus généralement, chez les Aleyrodidae) (Stansly *et al.*, 2010). Les femelles pondent leurs œufs en groupes, généralement sous la surface des feuilles. *B. tabaci* est insecte haplo-diploïde arrhénotoque, chez qui les œufs fécondés engendrent des femelles diploïdes tandis que les œufs non fécondés engendrent des mâles haploïdes (Blackman et Cahill, 1998). Après l'éclosion des œufs, les quatre stades larvaires se succèdent, séparés par des mues. Seul le premier stade larvaire (L1) est mobile : il rampe pendant une courte période jusqu'à ce qu'il trouve un site nourricier, où il se fixe et où aura lieu le reste du développement larvaire. Le développement est hémimétabole, c'est-à-dire à métamorphose incomplète. Ainsi, les changements de stade s'accompagnent d'un grossissement de la larve et de quelques changements morphologiques. Le dernier stade larvaire (L4) comporte deux phases. La première se nourrit encore, tandis que la deuxième, ne se nourrit plus. Ce dernier stade est le siège de la métamorphose incomplète que subissent les insectes hémimétaboles. La larve L4

tardive est caractérisée par l'apparition de tâches oculaires rouges et d'ébauches d'ailes, qui ne sont pas visibles aux stades antérieurs. L'adulte émerge à travers une ouverture en forme de T dans la partie antérieure de cette larve de dernier stade. L'accouplement a lieu sur la plante hôte, quelques heures après l'émergence (Byrne et Bellows, 1991).

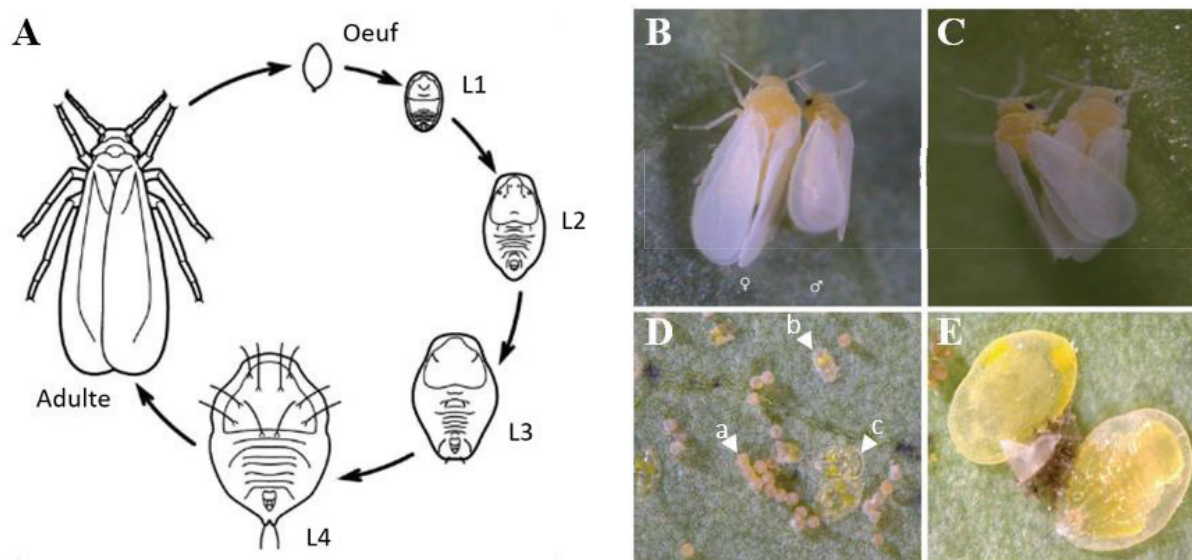


Figure 6. Cycle de développement de *B. tabaci*. (A) Les différents stades, de l'œuf à l'adulte. (B) Adultes (mâle et femelle). (C) Adultes lors de l'accouplement (gauche : mâle, droite : femelle). (D) Œufs et larves, a : œufs, b : larve L1, larves L2-L3. (E) Larve L4 précoce (à droite) et tardive (à gauche). Modifié d'après Chen *et al.* 2016.

Les traits d'histoire de vie de *B. tabaci* tels que la fécondité, la durée du cycle de développement et la longévité des adultes dépendent de l'espèce analysée (*e.g.*, Iida *et al.*, 2009; Jiao *et al.*, 2013), mais aussi de facteurs biotiques comme la plante hôte (*e.g.*, Iida *et al.*, 2009; Jiao *et al.*, 2013; Romba et Gnankiné, 2018), et abiotiques comme la température (*e.g.*, Bonato *et al.*, 2007) (Tableau 2).

Tableau 2. Fécondité, durée du cycle de développement et longévité moyenne de *B. tabaci* (espèce Méditerranéenne) à différentes températures ^a.

Température (°C)	Fécondité ^b	Durée développement larvaire (jours) ^c	Longévité de l'adulte (jours) ^c
17	49.3	55.8	39.6
21	105.3	39.6	27.3
25	94.2	25.6	21.9
30	69.6	20.3	14.6
35	41.0	20.5	8.5

^a Mesures réalisées de 17 à 35°C sur tomate (*Solanum lycopersicum*) (Bonato *et al.* 2007).

^b Nombre total d'œufs pondus au cours de la vie de l'individu.

^c De l'éclosion de l'œuf à l'émergence de l'adulte.

3.1.2. Diversité génétique et biotypes

L'expansion géographique de *B. tabaci* a été associée à une importante diversification de cet insecte en différentes populations morphologiquement identiques, mais biologiquement et écologiquement hétérogènes, notamment en termes de gamme de plantes hôtes, de résistance aux insecticides, d'aire de répartition géographique, d'associations symbiotiques, et de capacité à transmettre certains phytovirus ou induire certains désordres physiologiques chez la plante. Dans la fin des années 1990, une nomenclature en 'biotypes', a été proposée pour tenter de hiérarchiser ces populations (pour une revue de l'histoire des biotypes, lire de Baro *et al.*, 2011). Ce terme vague sur le plan taxonomique a notamment permis de ne pas s'avancer quant au statut d'« espèce unique complexe » ou de « complexe d'espèces » de *B. tabaci*. Toutefois, l'absence d'un cadre clair a mené la communauté à décrire de très nombreux biotypes, au moins 36, dont la réalité biologique sous-jacente était souvent peu connue. Dans certains cas, des groupes isolés sur le plan reproductif ont été regroupés dans le même biotype, tandis que certains groupes ont été désignés sous différents biotypes, créant ainsi des synonymies et une grande confusion dans la littérature.

Pour tenter de clarifier la situation et s'accorder sur une nomenclature, en 2010, une étude a délimité 11 clades majeurs et 24 groupes mineurs à l'aide du gène mitochondrial de la cytochrome oxydase I (*mtCOI*), en utilisant 202 haplotypes différents (Dinsdale *et al.*, 2010). Dans cette étude, la distribution des divergences nucléotidiques par paire d'haplotypes a révélé deux ruptures, une à 11% et l'autre à 3,5%, ce qui permis aux auteurs de délimiter des espèces potentielles sous l'hypothèse que ces ruptures sont dues à l'isolement reproducteur (**Figure 7**). La rupture à 11% a permis de définir des clades majeurs, supposément liés à des évènements évolutifs anciens (**Figure 8**). La rupture à 3,5%, supposément liée à une absence de flux de gènes à une échelle de temps plus courte, a permis de définir les espèces potentielles (groupes mineurs) du complexe d'espèces *B. tabaci* (**Figure 8**) (Dinsdale *et al.*, 2010).

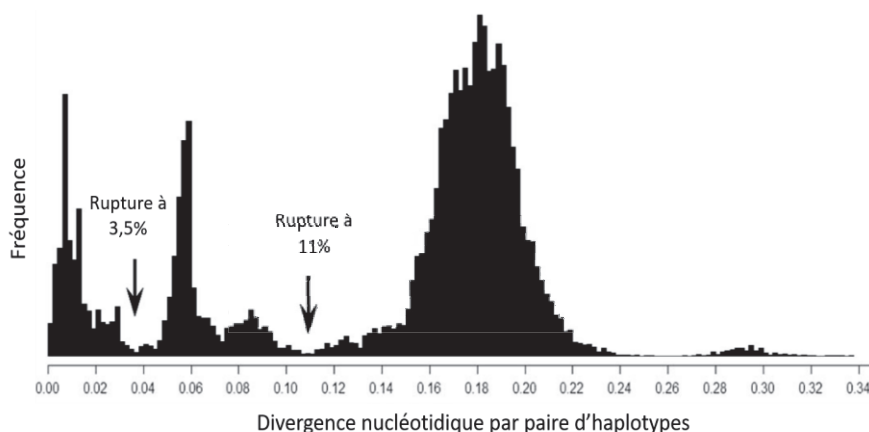


Figure 7. Distribution des divergences nucléotidiques par paires d'haplotypes du gène mitochondrial *mtCOI* de *B. tabaci* (Adapté de Dinsdale *et al.*, 2010).

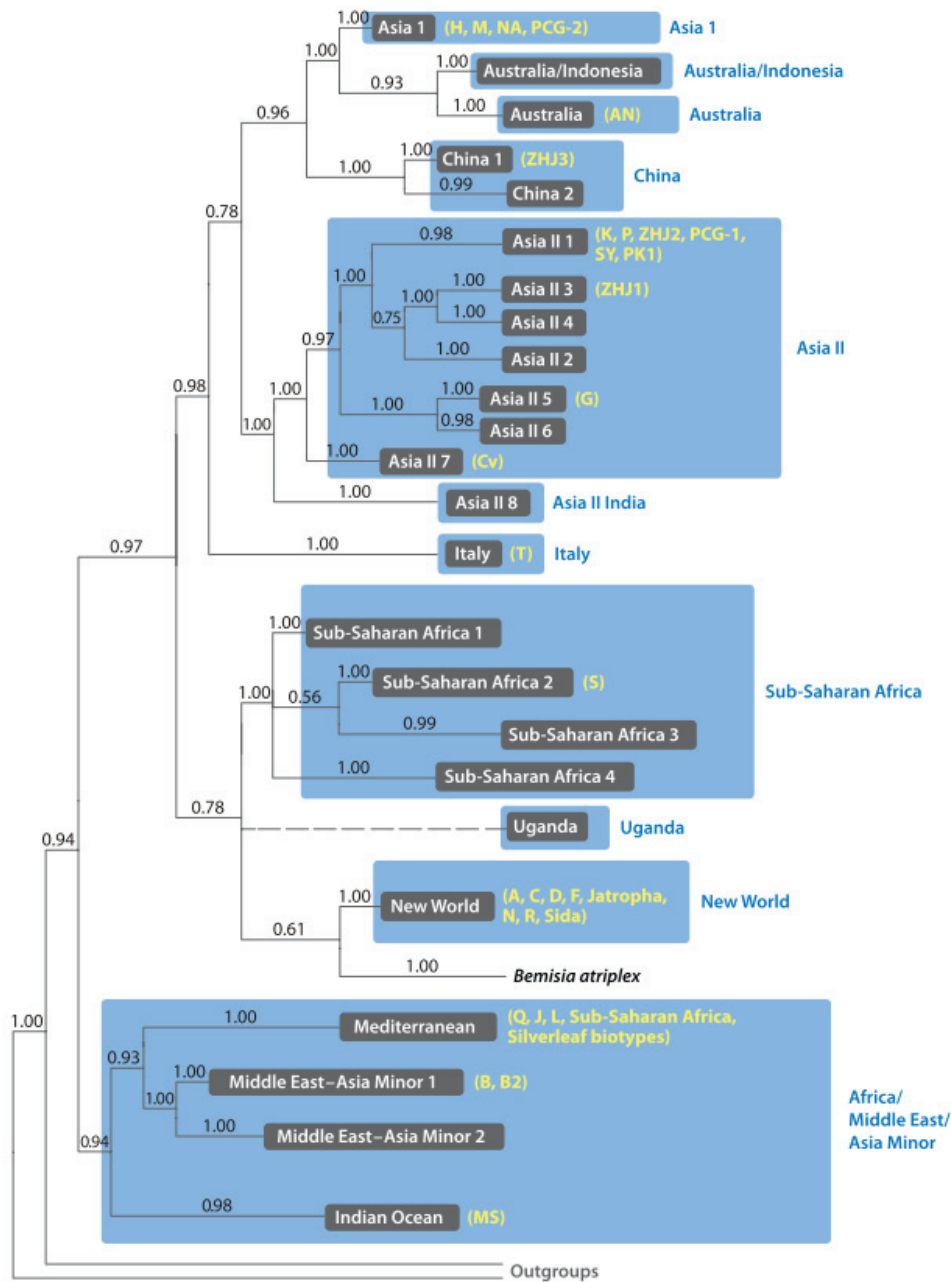


Figure 8. Phylogénie du complexe d'espèces *B. tabaci* basée sur le gène mitochondrial de la Cytochrome Oxydase I. Les cadres bleus représentent les clades majeurs, les cadres noirs les espèces et les biotypes sont indiqués en jaune (De Barro *et al.*, 2011). On voit clairement que certaines espèces peuvent contenir plus d'un biotype. *Cette phylogénie n'est pas la plus récente, mais elle a le mérite de présenter clairement comment l'outil moléculaire a permis de délimiter les contours des différentes espèces et dépasser les limites de la nomenclature en biotypes.*

A l'issu de ce travail, il est proposé que le complexe d'espèces *B. tabaci* comprenne 24 espèces potentielles, regroupant les biotypes précédemment décrits (**Figure 8**, Dinsdale *et al.*, 2010; De Barro *et al.*, 2011). Cette classification moléculaire a été en partie corroborée par des données de croisements expérimentaux indiquant que certains des 36 biotypes décrits plus hauts ne sont pas sexuellement compatibles, et forment effectivement des espèces différentes (Xu *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2012). Depuis ce premier travail, de nouveaux haplotypes mitochondriaux divergeant de plus de 3,5% de toutes les espèces potentielles précédemment identifiées ont été découvert, portant le nombre d'espèces potentielles de 24 à 44 (**Tableau 3**, Firdaus *et al.*, 2013; Roopa *et al.*, 2015; Hu *et al.*, 2018; Kanakala et Ghanim, 2019). Ces espèces sont elles-mêmes divisibles en sous-groupes génétiques, parfois rencontrés sous le terme de 'mitotypes' ou 'groupes mitochondriaux'.

Tableau 3. Liste des 44 espèces *B. tabaci* identifiées à ce jour, sur la base du gène mitochondrial de la Cytochrome Oxydase I (délimitées par le seuil de divergence 3,5%)^a.

Espèce	Suite (1)	Suite (2)	Suite (3)
Africa	Asia II 9	China 2	Middle East Asia Minor K (MEAMK)
Asia I	Asia II 10	China 3	New World 1
Asia I - India	Asia II 11	China 4	New World 2
Asia II 1	Asia II 12	China 5	Ru
Asia II 2	Asia II 13	Indian Ocean	Spain I
Asia II 3	Asia III	Italy 1	Sub Saharan Africa 1 (SSA-1)
Asia II 4	Asia IV	Japan 1	Sub Saharan Africa 2 (SSA-2)
Asia II 5	Asia V	Japan 2	Sub Saharan Africa 3 (SSA-3)
Asia II 6	Australia	Mediterranean (MED)	Sub Saharan Africa 4 (SSA-4)
Asia II 7	Australia/Indonesia	Middle East Asia Minor 1 (MEAM1)	Sub Saharan Africa 5 (SSA-5)
Asia II 8	China 1	Middle East Asia Minor 2 (MEAM2)	Uganda

^a D'après Kanakala et Ghanim, 2019.

Bien qu'elle ait fourni un cadre clair, cette phylogénie basée sur ce seuil de 3,5% n'est pas idéale, et est encore aujourd'hui à l'origine de débats. Notamment, la variabilité mitochondriale à l'intérieur de certaines de ces espèces diffère beaucoup et tiendrait plus à sous-estimer le nombre d'espèces total (Boykin *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2013). Par exemple, la diversité intra de certaines espèces dépasse le seuil de 3,5% (Lee *et al.*, 2013), probablement en raison de l'ajout d'haplotypes découverts après la première analyse de 2010 (Dinsdale *et al.*, 2010). Par ailleurs, le seuil de 3,5 % n'a pas forcément de sens biologique. En effet, bien que

l'on observe une rupture dans la distribution des distances par paires d'haplotypes à ce seuil (**Figure 7**), il n'est pas exclu qu'au sein d'une espèce potentielle, des incompatibilités existent entre groupes mitochondriaux dont la distance est inférieure à ce seuil. Inversement, des groupes pourraient s'hybrider alors que leur distance mitochondriale est supérieure à ce seuil.

Parmi toutes les espèces décrites jusque-là (**Tableau 3**), l'espèce méditerranéenne (MED) et l'espèce proche Middle East Asia Minor I (MEAM1) (**Figure 9**) figurent parmi les plus envahissantes. Ces 30 dernières années, elles ont colonisé de nombreuses régions du globe depuis leur aire d'origine, la péninsule ibérique (MED) et l'Asie Mineure (MEAM1) (De Barro *et al.*, 2011). Dans le cadre de la thèse, nous nous sommes plus particulièrement intéressés à l'espèce MED. Elle a été identifiée en Asie de l'Est et du Sud-Est, au Moyen-Orient, en Amérique du Sud et du Nord, et en Europe (pour une revue, voir Kanakala et Gahnim, 2019). L'espèce méditerranéenne (MED) a été divisée en quatre groupes mitochondriaux : Q1, Q2, Q3 et ASL (Gueguen *et al.*, 2010). Toutefois, des analyses microsatellites de terrain (Mouton *et al.*, 2015) et des expériences de croisements en laboratoire (Vyskočilová *et al.*, 2018) ont montré que le groupe ASL est isolé sur le plan reproductif des groupes Q1 et Q2. Ces résultats ont permis de conclure que le groupe ASL était mal classé et qu'il n'appartient pas à l'espèce MED (Mouton *et al.*, 2015; Vyskočilová *et al.*, 2018) (**Figure 9**).

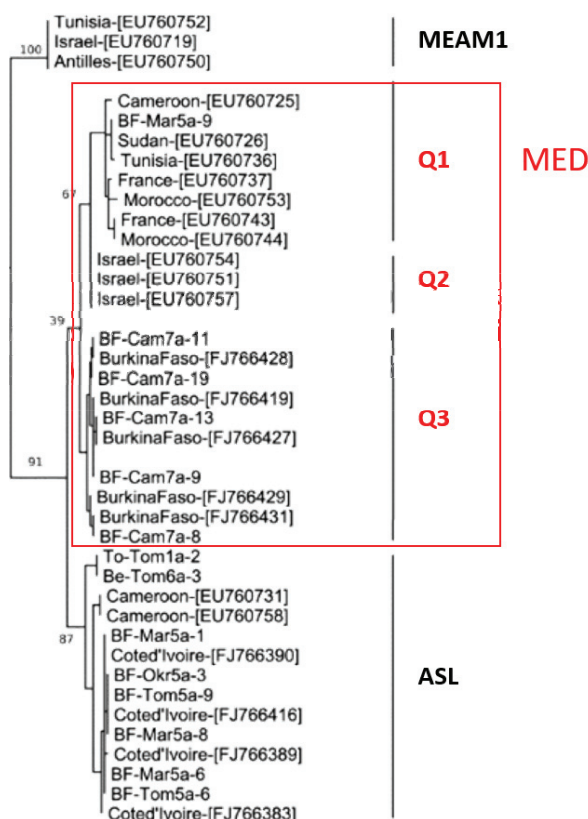


Figure 9. Extrait de la phylogénie de *B. tabaci* basée sur le gène mitochondrial de la Cytochrome Oxydase I (*mtCOI*), ne montrant seulement que trois espèces potentielles du complexe. MEAM1 : Middle-East Asia Minor I ; MED : Mediterranean (groupes mitochondriaux Q1, Q2 ou Q3) ; ASL : African Silver-Leafing (Adapté de Gnankiné *et al.* 2013).

Les groupes Q1, Q2 et Q3 présentent différentes distributions géographiques. Le groupe Q1 est largement distribué dans l'ouest du bassin Méditerranéen : Algérie, Grèce, Maroc, Portugal et Tunisie (Chu *et al.*, 2008; Gueguen *et al.*, 2010; Gnankiné *et al.*, 2013; Gauthier *et al.*, 2014). Il a également été trouvé dans différentes parties du monde, comme en Afrique subsaharienne, en Amérique ou en Asie (Chu *et al.*, 2008; Gueguen *et al.*, 2010; Gnankiné *et al.*, 2013). La distribution géographique du groupe Q2 semble plus restreinte. Il est principalement rencontré dans l'est du bassin Méditerranéen (Israël et Chypre) (Chu *et al.*, 2008; Gueguen *et al.*, 2010; Mouton *et al.*, 2012; Gauthier *et al.*, 2014), mais il a aussi été identifié dans d'autres régions du monde, comme à la Réunion (Mouton *et al.*, 2012) ou en Corée du Sud (Guo *et al.*, 2021). Dans certaines aires géographiques, Q1 et Q2 coexistent, comme en Espagne, en Egypte, en Italie, en Syrie et en Turquie (Chu *et al.*, 2008; Mouton *et al.*, 2012; Gauthier *et al.*, 2014; Parrella *et al.*, 2014; Terraz *et al.*, 2014). Les groupes Q1 et Q2 sont les seuls membres du complexe d'espèces *B. tabaci* présents en France, où ils coexistent également (Gueguen *et al.*, 2010; Mouton *et al.*, 2012; Terraz *et al.*, 2014). Le groupe Q3 n'a été identifié qu'au Burkina-Faso (Gueguen *et al.*, 2010; Mouton *et al.*, 2012; Gnankiné *et al.*, 2013).

3.1.3. Gamme de plantes hôtes et importance agronomique

A l'échelle du complexe d'espèces, on peut retrouver *B. tabaci* sur plus de 600 espèces de plantes hôtes, la moitié appartiennent à cinq familles botaniques, les Asteraceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Malvaceae et Solanaceae. Elles comprennent notamment des plantes maraîchères comme le manioc (Euphorbiaceae), les haricots (Fabaceae) et la tomate (Solanaceae), et ornementales comme l'hibiscus (Malvaceae) ou le poinsettia (Euphorbiaceae) (Oliveira *et al.*, 2001). Le degré de polyphagie de *B. tabaci* est variable selon les espèces. L'espèce la plus polyphage, MEAM1, est la seule à être considérée comme étant réellement 'généraliste', suivie des espèces Asia I, Indian Ocean, MED et SSA-1, très polyphages également. Au contraire, d'autres espèces sont considérées comme 'spécialistes', et présentent des gammes d'hôtes plus ou moins restreintes (pour une revue, voir Malka *et al.*, 2018). Il peut également exister des variations de gamme d'hôtes au sein d'une même espèce. Par exemple, chez l'espèce MED, les groupes mitochondriaux Q1 et Q2 sont très polyphages (Vyskočilová *et al.*, 2019), tandis que des études de terrain et des expériences menées au laboratoire ont montré que Q3 présente une gamme d'hôtes plus restreinte, et semble se spécialiser sur le lantana (*Lantana camara*), une plante exotique (Romba et Gnankiné, 2018; Romba *et al.*, 2018).

D'autres travaux ont révélé des différences de gamme d'hôtes entre les biotypes Q1 et Q2, mais aussi entre populations Q1 issues de différentes localités (Vyskočilová *et al.*, 2019).

La sélection de la plante hôte chez *B. tabaci* fait sur la base de l'acquisition de signaux olfactifs et gustatifs. *B. tabaci* présente un système olfactif très réduit, que ce soit au niveau morphologique (Stansly *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2015; Mrisho *et al.*, 2021), ou au niveau moléculaire (Chen *et al.*, 2016; Mrisho *et al.*, 2021). Des travaux menés sur le rôle de l'olfaction lors de la sélection à distance de la plante hôte chez *B. tabaci* semblent indiquer que ce insecte emploie une stratégie basée sur l'évitement des plantes non-favorables, plutôt que sur la recherche active d'une plante favorable (*e.g.*, Islam *et al.*, 2017; Mrisho *et al.*, 2021). Par exemple, des expériences de choix impliquant des plantes favorables et non-favorables ainsi que certains de leurs composés volatils respectifs indiquent que *B. tabaci* SSA-ESA (*Sub-Saharan Africa - Eastern and Central Africa*) se focalise sur l'identification et l'évitement des composés volatils des plantes non-favorables (Mrisho *et al.*, 2021). Lorsque *B. tabaci* arrive sur une nouvelle plante hôte, l'insecte insère ses pièces buccales (stylet) dans l'épiderme de la feuille et réalise une série de ponctions cellulaires (Stansly *et al.*, 2010). Comme chez la plupart des insectes phloémophages, ces ponctions permettent à *B. tabaci* d'évaluer s'il s'agit d'une plante hôte appropriée pour son alimentation, sur la base des propriétés nutritives (Powell *et al.*, 2006) et des défenses chimiques (Walling, 2008) de celle-ci. L'accouplement et la ponte au lieu au niveau site nourricier.

Concernant le potentiel ravageur de *B. tabaci*, il s'exerce à différents niveaux car le prélèvement de la sève phloémienne occasionne des dégâts directs et indirects pour la plante. Les dégâts directs peuvent se manifester sous forme de déformations, de flétrissements et autres désordres physiologiques (Byrne et Bellows, 1991). D'autre part, les excréments liquides des aleurodes (le miellat), riches en sucres, favorisent le développement de champignons saprophytes (la fumagine) affectant la fonction photosynthétique et pouvant rendre le produit impropre à la vente et à la consommation (Riley et Palumbo, 1995; Oliveira *et al.*, 2001). Ces dégâts ont généralement peu d'incidence, mais des attaques prolongées et des proliférations exceptionnelles peuvent devenir problématiques (Oliveira *et al.*, 2001). Comme pour d'autres insectes hémiptères, la principale source de dégâts causés par *B. tabaci* est la transmission de virus de plantes (phytovirus) (Oliveira *et al.*, 2001). A ce jour, plus de 200 phytovirus ont été identifiés comme étant transmis par *B. tabaci*. Ils appartiennent majoritairement au genre *Begomovirus* (environ 90%), qui comprend par exemple les virus de la famille des *Geminiviridae* responsables de la mosaïque du manioc, une maladie qui a entraîné jusqu'à

100% de perte de production en Afrique centrale et de l'Est en 1997 (Colvin *et al.*, 2004) ! *B. tabaci* transmet aussi plus rarement des virus de la famille des *Carlavirus*, *Crinivirus*, *Ipomovirus* et *Torradovirus* (Jones, 2003; Polston *et al.*, 2014).

Les dégâts causés par *B. tabaci* ont entraîné l'utilisation intensive d'insecticides synthétiques (principalement des carbamates, des organophosphorés, des pyréthriinoïdes et des néonicotinoïdes), qui restent encore aujourd'hui le principal moyen de contrôle des populations de ce ravageur à travers le monde (Perring *et al.*, 2018). L'utilisation irraisonnée de ces insecticides a été associée à plusieurs inconvénients, comme l'émergence de résistance chez l'insecte (Horowitz *et al.*, 2007), et le risque sanitaire pour les agriculteurs et les consommateurs. En réponse à ces problématiques, de nombreux projets ont cherché à développer des moyens de lutte alternatifs, basés sur une meilleure connaissance de la biologie et de l'écologie de *B. tabaci*, et des facteurs contribuant à son remarquable succès adaptatif. Ces méthodes comprennent principalement l'utilisation d'ennemis naturels (parasitoïdes, prédateurs et champignons entomopathogènes) et, dans une moindre mesure, l'utilisation d'insecticides naturels (huiles végétales, détergents et extraits de plantes) et la sélection de plantes résistantes (Perring *et al.*, 2018).

3.2. Une communauté symbiotique complexe

Les différentes espèces et groupes mitochondriaux du complexe *B. tabaci* ne se distinguent pas uniquement par leurs caractéristiques biologiques et écologiques. En effet, ils possèdent également des combinaisons de bactéries symbiotiques qui leur sont propres.

3.2.1. Le symbiote primaire

Comme la majorité des insectes phloémophages, *B. tabaci* est associé à un symbiote primaire, obligatoire. Ce symbiote intracellulaire, *Portiera aleyrodidarum* (Thao et Baumann, 2004) (par la suite, *Portiera*), est une gamma-protéobactérie commune à tous les membres du complexe d'espèces *B. tabaci*. Comme cela a été observé dans les autres symbiotes obligatoires d'insectes hémiptères s'alimentant exclusivement de la sève phloémienne des plantes, le rôle principal de *Portiera* est nutritionnel et elle produit les acides aminés essentiels et caroténoïdes que son hôte ne peut ni produire par lui-même ni trouver dans son alimentation (Santos-Garcia *et al.*, 2012). *Portiera* possède toutes les caractéristiques d'un symbiote primaire ancien, l'âge de l'association entre la bactérie et son hôte étant estimé à 180 Ma. Son génome se situe parmi les plus petits génomes symbiotiques (entre 357.461 et 358.242 paires de bases, selon les

assemblages ; Santos-Garcia *et al.*, 2012; Sloan et Moran, 2012; Rao *et al.*, 2015). Il est riche en AT (73,9%), présente une réduction des régions régulatrices de la transcription (Zhu *et al.*, 2019), et possède un nombre réduit de gènes (272) dont 56 dédiés à la synthèse d'acides aminés essentiels (Rao *et al.*, 2015). Ainsi, la partie du génome impliquée dans cette fonction est d'environ 20%, le double de ce qui a été observé chez *B. aphidicola*. *Portiera* a conservé les voies de biosynthèses des dix acides aminés essentiels (arginine, histidine, leucine, isoleucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, tryptophane, valine), mais elles sont toutes incomplètes, à l'exception des voies de biosynthèse de la thréonine et du tryptophane (Rao *et al.*, 2015). *Portiera* a également conservé la capacité de produire des caroténoïdes, un pigment et antioxydant que les insectes trouvent généralement dans leur alimentation, mais a perdu la majorité des gènes impliqués dans la synthèse des vitamines B et cofacteurs. Ces pertes ont eu lieu chez l'ancêtre commun au complexe d'espèce *B. tabaci*. Ainsi, les *Portiera* associées aux différentes espèces présentent des caractéristiques génomiques similaires, et les mêmes capacités métaboliques (Santos-Garcia *et al.*, 2012; Sloan et Moran, 2012a; Rao *et al.*, 2015; Zhu *et al.*, 2021).

3.2.2. Diversité et prévalence des symbiotes secondaires

En plus du symbiote primaire, des symbiotes secondaires appartenant à 7 genres bactériens ont été décrits à ce jour chez *B. tabaci* : *Arsenophonus*, *Cardinium*, *Fritschea*, *Hamiltonella*, *Hemipteriphilus*, *Rickettsia* et *Wolbachia* (**Tableau 4**) (Zchori-fein et Brown, 2002; Everett *et al.*, 2005; Gottlieb *et al.*, 2006; Bing *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2020).

Tableau 4. Diversité des symbiotes intracellulaires associés à *B. tabaci*.

Symbiose	Symbiote	Taxon ^a	Localisation	Caractéristiques génomiques		
				Taille (Mb)	CDS ^b	Référence
Primaire	<i>Portiera aleyrodidarum</i>	γ	Bactériocytes	0,36	272	(Rao <i>et al.</i> , 2015)
	<i>Arsenophonus</i> sp.	γ	Bactériocytes	1,86	1597	PRJEB35780
	<i>Cardinium hertigii</i>	B	Bactériocytes et autres tissus	1,01	754	(Santos-Garcia <i>et al.</i> , 2014)
	<i>Fritschea bemisiae</i>	C	Bactériocytes	-	-	-
Secondaire	<i>Hamiltonella defensa</i>	γ	Bactériocytes	1,84	1806	(Rao <i>et al.</i> , 2015)
	<i>Hemipteriphilus asiaticus</i>	α	Bactériocytes	-	-	-
	<i>Rickettsia bellii</i>	α	Bactériocytes ou autres tissus	1,38	1552	(Chen <i>et al.</i> , 2016)
	<i>Rickettsia torix</i>	α	Bactériocytes et autres tissus	1,48	1446	(Wang <i>et al.</i> 2020)
	<i>Wolbachia</i> sp.	α	Bactériocytes et autres tissus	1,25	1339	(Opatovsky <i>et al.</i> , 2018)

^a α , Alphaproteobacteria; γ , Gammaproteobacteria; B, Bacteroidetes; C, Chlamydiae.

^b Coding DNA Sequences, sequences codant des protéines.

La prévalence des symbiotes secondaires, c'est-à-dire la proportion d'individus infectés, est forte dans les populations naturelles. Une méta-analyse réalisée en 2014 a estimé que 88% des individus seraient infectés par au moins un symbiote secondaire (systèmes di-symbiotiques), et 49% des individus par plus d'une bactérie secondaire (multi-infections), avec parfois jusqu'à trois symbiotes secondaires dans le même individu hôte (Zchori-Fein *et al.*, 2014). La composition de la communauté symbiotique secondaire est spécifique à chaque espèce (variation interspécifique, Zchori-Fein *et al.*, 2014; Kanakala et Gahnim, 2019) (**Figure 10A**), et à chaque groupe mitochondrial au sein de ces espèces (variation intraspécifique, Gueguen *et al.*, 2010; Gnankiné *et al.*, 2013; Terraz *et al.*, 2014) (**Figure 10B**). Les exemples présentés (**Figure 10A-B**) concernent des localités différentes, mais globalement, la composition du cortège symbiotique d'une d'espèce ou d'un groupe mitochondrial est constante quelle que soit la localité géographique (il n'est pas possible de représenter toutes les espèces ou groupes mitochondriaux pour même localité car ils ne coexistent pas tous). Enfin, pour un même groupe mitochondrial, la prévalence des symbiotes peut être variable entre les populations (**Figure 10C**).

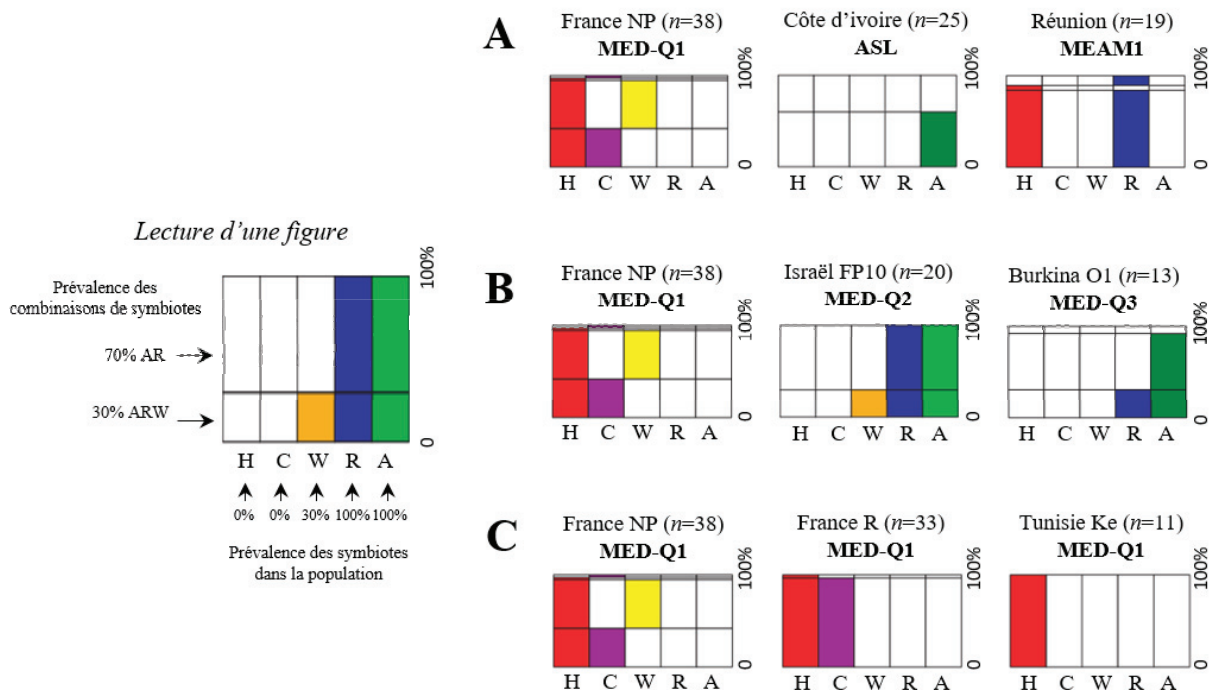


Figure 10. Prévalence des symbiotes secondaires et variation de la composition du cortège symbiotique chez *B. tabaci* entre espèces (A), groupes mitochondriaux Q1, Q2 et Q3 de l'espèce MED (B), et populations du groupe mitochondrial Q1 de l'espèce MED (C). Les colonnes correspondent à la prévalence d'un symbiote et les lignes à la prévalence des combinaisons de symbiotes dans une population donnée. En vert, *Arsenophonus* (A) ; en violet, *Cardinium* (C) ; en rouge, *Hamiltonella* (H) ; en bleu, *Rickettsia* (R) ; en jaune, *Wolbachia* (W) (Modifié d'après Gueguen *et al.* 2010).

La majorité des symbiotes secondaires n'est pas fixée dans les populations (leur prévalence n'est pas de 100%), mais certains d'entre eux peuvent être observés en forte prévalence, comme *Hamiltonella* et *Arsenophonus*, chez MED et MEAM1. Chez ces deux espèces, les deux bactéries sont presque toujours présentes et proches de la fixation dans les populations qu'elles infectent, mais mutuellement exclusives, c'est-à-dire qu'on ne les trouve pas ensemble. Typiquement, *Arsenophonus* est associé à MED-Q2 et MED-Q3, tandis que *Hamiltonella* est trouvée chez MED-Q1 et MEAM1 (Gnankiné *et al.*, 2013; Zchori-Fein *et al.*, 2014). Chez d'autres espèces comme SSA (Sub-Saharan African, anciennement biotypes AnSL) ou ASL (African Silver-Leafing, anciennement incluse dans MED), les symbiotes secondaires sont moins fréquents, rarement fixés, et certaines populations semblent en être totalement dépourvues (Gueguen *et al.*, 2010; Gnankiné *et al.*, 2013; Ghosh *et al.*, 2015). Cependant, il est important de noter que les symbiotes sont le plus souvent recherchés de manière spécifique par des approches *a priori* de PCR qui ne permettent pas l'identification de nouvelles bactéries. Ainsi, il est possible que la diversité et la prévalence des infections par des symbiotes secondaires dans ces populations soient sous-estimées. Toutefois, de récentes études de métagénomique sans *a priori* n'ont réalisées à l'échelle du globe (Wang *et al.*, 2019), et plus spécifiquement du continent africain (Mouton *et al.*, 2021), n'ont révélé l'existence d'autres symbiotes secondaires potentiels chez *B. tabaci*.

3.2.3. Localisation et transmission

L'utilisation de la technique d'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH, *fluorescent in situ hybridization*) a permis d'étudier de manière détaillée la localisation des symbiotes au sein de *B. tabaci* (**Figure 11**). Le symbiote primaire, *Portiera*, est toujours localisé dans les bactériocytes (introduits dans le chapitre 1.1. de ce manuscrit de thèse). Chez *B. tabaci*, les bactériocytes, se regroupent en deux organes, les bactériomes (Gottlieb *et al.*, 2008). L'une des particularités de *B. tabaci* est que ses symbiotes secondaires co-localisent avec *Portiera*, dans les mêmes bactériocytes (Gottlieb *et al.*, 2008), ce qui n'est pas le cas chez d'autres insectes comme les pucerons, chez qui il existe des bactériocytes primaires, dédiés aux symbiotes primaires, et des bactériocytes qualifiés de secondaires, réservés aux symbiotes secondaires (Moran et Telang, 1998; Fukatsu *et al.*, 2000). Chez *B. tabaci*, *Arsenophonus*, *Hamiltonella*, *Fritschea* et *Hemipteriphilus* sont strictement confinés dans les bactériocytes (Everett *et al.*, 2005; Gottlieb *et al.*, 2008; Bing *et al.*, 2013; Marubayashi *et al.*, 2014). Exceptionnellement, *Arsenophonus* a été détecté dans les glandes salivaires et l'intestin moyen chez des individus

du groupe génétique Asia II, en plus des bactériocytes (Rana *et al.*, 2012). *Cardinium*, *Rickettsia* et *Wolbachia* peuvent présenter des localisations plus variées et infecter, en plus des bactériocytes, d'autres tissus ou l'hémolymphe de l'hôte (Gottlieb *et al.*, 2006, 2008; Shi *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2020).

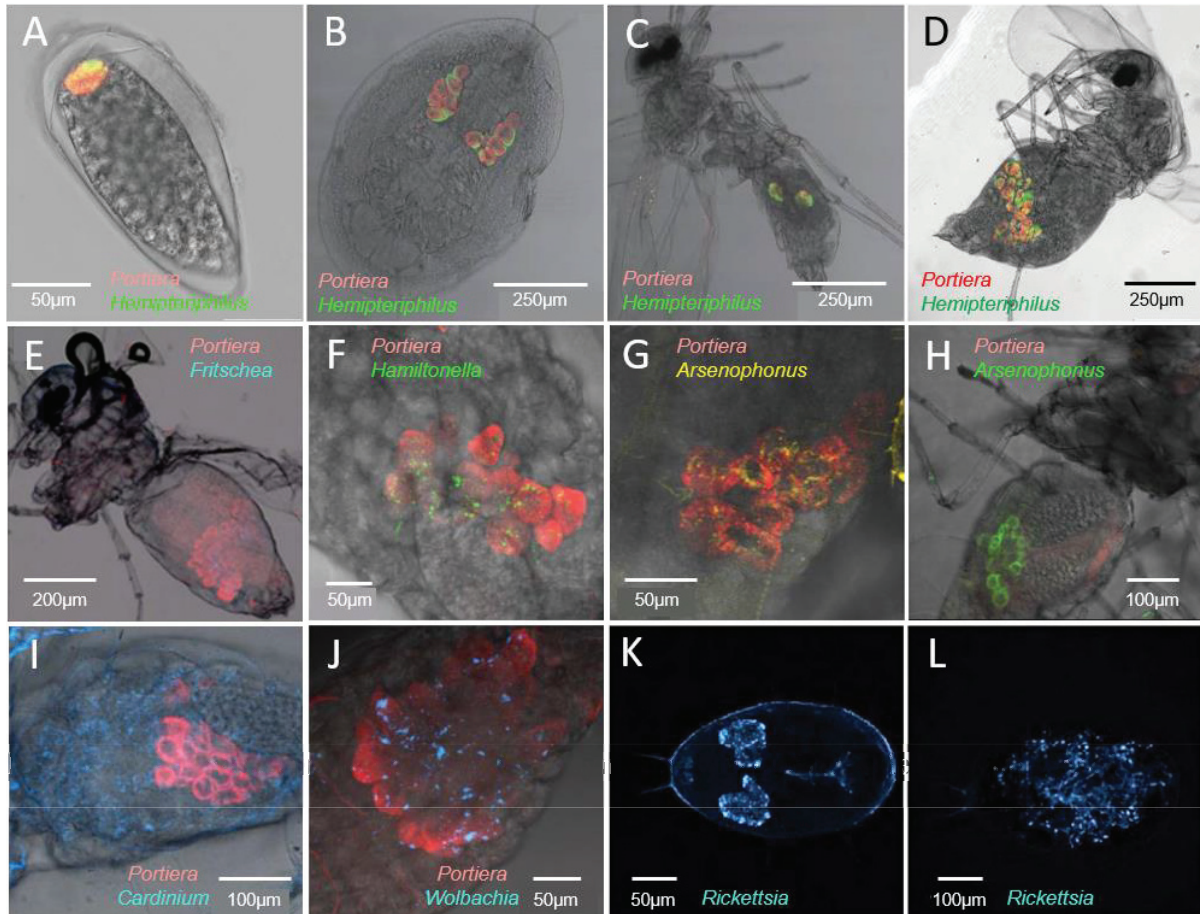


Figure 11. Localisation de *Portiera* et des symbiotes secondaires de *B. tabaci*, déterminée par hybridation fluorescente *in situ* (FISH, Fluorescence In Situ Hybridization). (A-D) *Portiera* (en rouge) et *Hemipterophilus* (en vert) à l'intérieur du bactériocyte de l'œuf (A), des bactériocytes de la nymphe (B), des bactériocytes du mâle adulte (C) et des bactériocytes de la femelle adulte (D) (Adapté de Bing *et al.*, 2013). (E) *Portiera* (en rouge) et *Fritschea* (en bleu), à l'intérieur des bactériocytes d'une femelle adulte (Adapté de Marubayashi *et al.*, 2014). (F) *Portiera* (en rouge) et *Hamiltonella* (en vert) à l'intérieur des bactériocytes d'une femelle adulte (Adapté de Gottlieb *et al.*, 2008). (G) *Portiera* (en rouge) et *Arsenophonus* (en jaune) à l'intérieur des bactériocytes d'une femelle adulte (Adapté de Gottlieb *et al.*, 2008). (H) *Portiera* (en rouge) à l'intérieur des bactériocytes et *Arsenophonus* (en vert) à l'intérieur de l'intestin d'une femelle adulte (Adapté de Rana *et al.*, 2012). (I) *Portiera* (en rouge) à l'intérieur des bactériocytes et *Cardinium* (en bleu) à l'intérieur de l'abdomen d'une femelle adulte (Adapté de Gottlieb *et al.*, 2008). (J) *Portiera* (en rouge) à l'intérieur des bactériocytes et *Wolbachia* (en bleu) à l'intérieur de l'abdomen d'une femelle adulte (Adapté de Gottlieb *et al.*, 2008). (K-L) *Rickettsia* (en bleu) à l'intérieur (K) ou à l'extérieur (L) des bactériocytes d'une larve L4 (Adapté de Gottlieb *et al.*, 2008).

La transmission de *Portiera* se fait exclusivement de manière verticale de la mère à ses descendants par l'intégration d'un seul bactériocyte maternel dans chaque ovocyte (Luan *et al.*, 2016). Le bactériocyte se divise au cours du développement de l'hôte pour atteindre un maximum de 150 bactériocytes chez les mâles et femelles adultes. Chez la femelle, cette prolifération continue afin d'approvisionner les œufs en bactériocytes. Ainsi, jusqu'à 300 bactériocytes peuvent être produits au cours de la vie d'une femelle (Luan *et al.*, 2016). Ce mode de transmission exceptionnel et propre aux aleurodes est encore plus surprenant chez *B. tabaci*. En effet, après son intégration dans l'œuf, le bactériocyte de *B. tabaci* persiste au cours de l'embryogenèse, contrairement à d'autres espèces d'aleurodes comme *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera : Aleyrodidae) chez qui le bactériocyte se dégrade dans l'embryon avant d'être reformé *de novo* à chaque génération à partir de cellules de l'embryon (Xu *et al.*, 2019). Ainsi, les bactériocytes de *T. vaporariorum* constituent une lignée cellulaire génétiquement identique aux autres cellules somatiques de l'individu (Xu *et al.*, 2019), tandis que les bactériocytes de *B. tabaci* constituent une lignée cellulaire différente des autres cellules somatiques (Luan *et al.*, 2018) !

La localisation des symbiotes secondaires dans les bactériocytes assure également leur transmission verticale aux descendants. Lorsque des symbiotes secondaires sont localisés exclusivement hors des bactériocytes, comme peut l'être parfois *Rickettsia* (Gottlieb *et al.*, 2008), la bactérie rejoint alors temporairement *Portiera* et les autres symbiotes dans les bactériocytes avant son intégration dans l'ovocyte. Le symbiote sort ensuite du bactériocyte pour envahir le reste de l'œuf (Gottlieb *et al.*, 2006; Skaljac *et al.*, 2010). Une autre route de transmission a également été décrite, par invasion des oocytes par *Rickettsia* depuis les cellules folliculaires au cours des premiers stades de développement, sans entrer dans le bactériocyte (Brumin *et al.*, 2012; Shan *et al.*, 2020).

Contrairement au symbiote primaire, certains symbiotes secondaires peuvent également être transmis de manière horizontale. Ces phénomènes sont difficilement observables mais peuvent être suggérés indirectement par l'incongruence phylogénétique entre espèces de *B. tabaci* et certains de leurs symbiotes secondaires (*e.g.*, Mouton *et al.*, 2012; Ahmed *et al.*, 2013). Ainsi, il s'est produit plusieurs événements de transfert horizontal de *Wolbachia*, *Cardinium* et *Rickettsia* au sein du complexe *B. tabaci* (Ahmed *et al.*, 2013). Ce type d'analyse a également permis de démontrer un transfert horizontal d'*Arsenophonus* entre les espèces *B. tabaci* ASL et SSA, mais aussi entre espèces d'aleurodes, puisqu'on retrouve la même souche d'*Arsenophonus* entre l'espèce de *B. tabaci* Indian Ocean (anciennement biotype Ms) et *T.*

vaporariorum (Mouton *et al.*, 2012). Des transferts horizontaux de symbiotes ont pu être observés au laboratoire, via la plante hôte (Caspi-Fluger *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2016, 2017). Ce phénomène a été décrit la première fois chez *B. tabaci* pour *Rickettsia*, entre individus de l'espèce MEAM1 se nourrissant sur la même feuille de coton (Caspi-Fluger *et al.*, 2012). Par la suite, ce mode de transmission a été observé pour *Wolbachia*, entre individus de l'espèce AsiaII7 (Li *et al.*, 2016), mais aussi entre deux espèces de *B. tabaci* différentes (MEAM1 et MED) pour *Rickettsia* (Li *et al.*, 2017). Des cas de transmission horizontale par le biais d'insectes parasitoïdes ont également été rapportés pour *Rickettsia* et *Wolbachia* (Ahmed *et al.*, 2015; Qi *et al.*, 2019).

3.2.3. Rôle des symbiotes secondaires chez *B. tabaci*

Contrairement à *Portiera*, les rôles des symbiotes secondaires chez *B. tabaci* ne sont que peu caractérisés. Les freins majeurs sont 1) l'absence de lignées naturelles ne contenant que le symbiote primaire, et 2) la difficulté à manipuler le cortège symbiotique chez *B. tabaci*, un sujet sur lequel je reviendrai plus tard dans ce manuscrit de thèse. De plus, *Fritschea* et *Hemipteriphilus* n'ont été identifiés que chez *B. tabaci* (Everett *et al.*, 2005; Bing *et al.*, 2013). Malgré tout, les symbiotes secondaires de *B. tabaci* ont reçu une attention grandissante ces dernières années.

Il a été ainsi montré que, chez l'espèce MEAM1, l'infection par *Rickettsia* peut accroître la susceptibilité de l'hôte aux insecticides (Kontsedalov *et al.*, 2008), sa thermotolérance (Brumin *et al.*, 2011), et sa résistance à la bactérie entomopathogène *Pseudomonas syringae* (Hendry *et al.*, 2014). Récemment, *Cardinium* a aussi été associé à une protection contre le stress thermique (Yang *et al.*, 2021), et à une altération du comportement alimentaire l'insecte (Ying *et al.*, 2021) chez l'espèce MED. Néanmoins, ces observations restent éparées, et sont le plus souvent limitées à un biotype ou une espèce. Par ailleurs, au sein d'une même espèce, ces effets peuvent dépendre de différents facteurs, dont le génotype de l'hôte (Hunter *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2021). Par exemple, l'infection par *Rickettsia* a été associée à une augmentation de la survie et du nombre de descendants, à une diminution du temps de développement et un biais du sex-ratio en faveur des femelles chez l'espèce MEAM1, ce qui a permis à la bactérie d'envahir très rapidement les populations naturelles du Sud des Etats-Unis d'Amérique en seulement 6 ans (Himler *et al.*, 2011). Toutefois, ces résultats n'ont pas été retrouvés dans des populations d'Israël de la même espèce (Chiel *et al.*, 2009), chez qui la prévalence de la bactérie était faible et en déclin pendant cette même période (Cass *et al.*, 2015). Par la suite, il a été

démontré que ces différences pouvaient être expliquées par le fait que les effets phénotypiques associés à l'infection par *Rickettsia* étaient dépendants du génotype de l'hôte (Hunter *et al.*, 2017). Enfin, depuis 2016, la prévalence de *Rickettsia* dans les populations naturelles du Sud des Etats-Unis décroît, tandis que la bactérie n'est plus associée aux effets précédemment décrits (Bockoven *et al.*, 2019).

Dans certains cas, l'infection par un symbiote secondaire peut favoriser directement l'utilisation de la plante hôte par l'insecte. Par exemple, *Hamiltonella* chez MED et *Rickettsia* chez MEAM1 ont été associés à une suppression des défenses immunitaires de la plante, et, par conséquent, à une meilleure survie et fécondité de l'insecte (Su *et al.*, 2015; Shi *et al.*, 2021). Les symbiotes secondaires peuvent également favoriser indirectement l'utilisation de la plante en facilitant la transmission de phytovirus (Gottlieb *et al.*, 2010; Kliot *et al.*, 2014, 2019). Par exemple, la protéine GroEL produite par *Hamiltonella* interagit avec la protéine d'enveloppe du virus des feuilles jaunes en cuillère de la tomate (TYLC) chez *B. tabaci* MEAM1 et facilite sa transmission par l'insecte (Gottlieb *et al.*, 2010). Il a été montré que le TYLC peut réprimer les défenses immunitaires induites et biochimiques du tabac *Nicotiana tabacum* (Zhang *et al.*, 2012; Luan *et al.*, 2013), ou encore altérer les propriétés nutritives de la tomate *Solanum lycopersicum* (Guo *et al.*, 2019), ce qui, en retour, profite à *B. tabaci*.

3.3. Rôle nutritionnel des symbiotes secondaires

Une aide importante à la compréhension du rôle des symbiotes secondaires chez *B. tabaci* vient de l'intégration de données génomiques avec des approches expérimentales, qui ont suggéré un rôle nutritionnel de ces symbiotes, qui semblent, dans certains cas, compléter les capacités de biosynthèse de *Portiera*.

Concernant la biosynthèse de vitamines B, l'analyse du génome d'*Hamiltonella* de l'espèce MED a révélé que ce symbiote a conservé les voies de biosynthèse des vitamines B2 (riboflavine), B3 (NAD(P)H), B6 (pyridoxine), B8 (Biotine) et B9 (Folate), et de certains cofacteurs (Rao *et al.*, 2015) (**Figure 12**). Il a donc été proposé qu'*Hamiltonella* complémente les voies de biosynthèse de *Portiera* pour la synthèse de ces composés (Rao *et al.*, 2015). Cette hypothèse, émise sur la base d'analyses *in silico*, a par la suite été confirmée par des données expérimentales chez l'espèce MEAM1. En effet, l'élimination d'*Hamiltonella* par traitement antibiotique a pour conséquence une réduction du contenu en vitamines B de l'insecte. Cette carence a été associée à une baisse de la fertilisation des œufs, qui a pu être rétablie par un apport alimentaire en vitamines B (Wang *et al.*, 2020). De la même manière, *Arsenophonus*

chez *T. vaporariorum*, une espèce d'aleurode proche de *B. tabaci*, semble produire des vitamines B pour son hôte (Santos-Garcia *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2020). Enfin, de récentes analyses génomiques et transcriptomiques ont attribué la production de vitamines B à *Arsenophonus* et *Wolbachia* chez Asia II 3 et China 1, deux espèces de *B. tabaci* dépourvues d'*Hamiltonella* (Zhu *et al.* 2021). Chez les populations MED-Q2, dépourvues d'*Hamiltonella*, il est aussi possible qu'*Arsenophonus* assure le même rôle étant donné sa forte prévalence dans les populations naturelles.

Dans certains cas, c'est l'hôte qui complète les fonctions perdues chez *Portiera*. En effet, *B. tabaci* est le seul membre du consortium possédant les gènes *panB* et *panC* de la voie de biosynthèse de la vitamine B5 (pantothénate) (**Figure 12**) acquis par l'ancêtre commun au complexe *B. tabaci* par transfert horizontal de gènes (HTG, *Horizontally Transmitted Gene*) depuis une bactérie apparentée au genre *Pseudomonas* (Chen *et al.*, 2016). Ces gènes sont fonctionnels et indispensables à la synthèse *de novo* du pantothénate (Ren *et al.*, 2021).

Enfin, la biosynthèse de la vitamine B8 (Biotine) est un cas de redondance fonctionnelle. En effet, les gènes *bioA*, *bioB* et *bioD* absents chez *Portiera* ont été identifiés chez *Hamiltonella* (Rao *et al.*, 2015) et chez *B. tabaci*, sous la forme d'HTG, acquis d'une bactérie apparentée à *Cardinium* (Chen *et al.*, 2016) (**Figure 12**). Théoriquement, la biosynthèse de la vitamine B7 peut être achevée par l'action complémentaire de *Portiera* et de *B. tabaci* ainsi que de *Portiera* et d'*Hamiltonella*, ce qui a été démontré expérimentalement. En effet, l'élimination d'*Hamiltonella* par traitement antibiotique ou l'inactivation des HTG de *B. tabaci* par ARN interférent sont associées à une réduction de la quantité de biotine dans le corps de l'insecte. Les auteurs de cette étude ont également montré que les contributions simultanées des gènes *BioA*, *BioB* et *BioD* d'*Hamiltonella* et de *B. tabaci* sont nécessaires pour subvenir complètement aux besoins nutritionnels en biotine du consortium (Ren *et al.*, 2020).

En l'état actuel de nos connaissances, d'autres symbiotes secondaires comme *Cardinium* ou *Rickettsia* ne semblent pas contribuer à la synthèse de vitamines (Chen *et al.*, 2016; Opatovsky *et al.*, 2018; Ren *et al.*, 2020, 2021; Wang *et al.*, 2020).

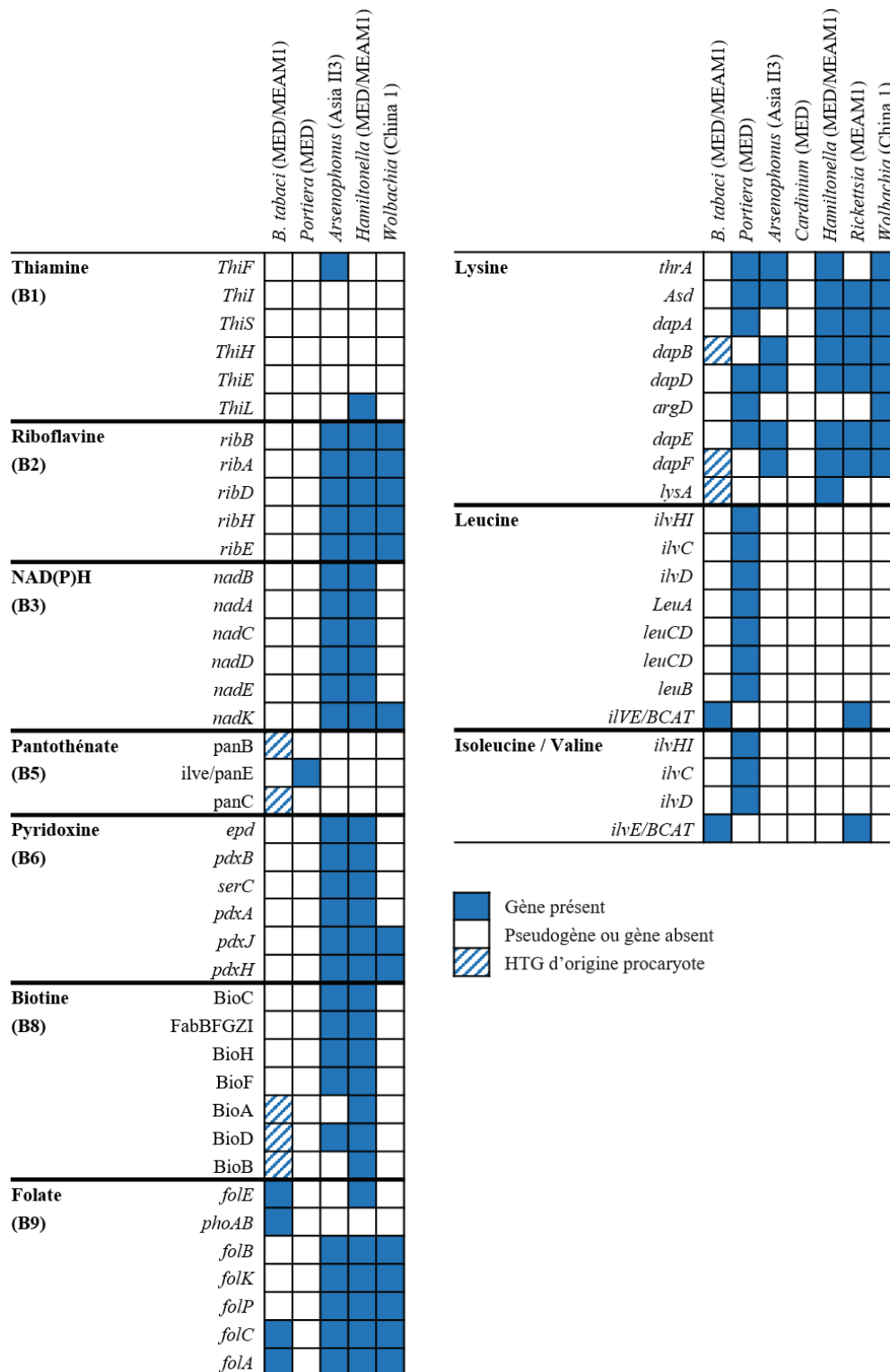


Figure 12. Contenu génique de *B. tabaci* et de ses symbiotes pour les voies de biosynthèse des vitamines B et des acides aminés essentiels lysine, leucine, isoleucine et valine. Chaque carré correspond à un gène, les différents gènes ordonnés de haut en bas dans l'ordre de réalisation de la voie de biosynthèse. HTG : Gène acquis par transfert horizontal (*Horizontally Transmitted Gene*) (Adapté de Luan *et al.*, 2015; Rao *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2016; Ren *et al.*, 2020, 2021; Wang *et al.*, 2020).

La contribution des symbiotes à la biosynthèse d'acides aminés essentiels a fait l'objet d'analyses génomiques *in silico*, mais n'a pas été démontrée expérimentalement (Luan *et al.*, 2015; Rao *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2016; Opatovsky *et al.*, 2018) (**Figure 12**). Notamment, *Hamiltonella* chez MED et MEAM1 possède les gènes *dapF*, *lysA* et *dapB* de la voie de biosynthèse de la lysine absents ou non fonctionnels chez *Portiera* (Rao *et al.*, 2015), indiquant qu'*Hamiltonella* pourrait compléter la voie de biosynthèse de *Portiera* pour ce métabolite. Les gènes *dapB* et *dapF* ont également été trouvés dans le génome d'*Arsenophonus* chez Asia II3, de *Rickettsia* chez MEAM1, et de *Wolbachia* chez China 1, mais pas le gène *lysA* : ils ne peuvent donc pas à eux seuls compléter la voie de biosynthèse de la lysine de *Portiera* (Chen *et al.*, 2016; Opatovsky *et al.*, 2018; Zhu *et al.*, 2021). Il a également été montré que *Rickettsia* possède le gène *ilvE* qui code pour l'enzyme assurant la dernière étape de la voie de biosynthèse des acides aminés branchés : l'isoleucine, la leucine et la valine (Chen *et al.*, 2016). Pour chacun de ces gènes (*dapB*, *dap F*, *lysA*, *ilvE*), il existe un gène homologue chez l'hôte, il s'agit donc de redondances fonctionnelles. *dapF*, *lysA* et *dapB* sont présents sous forme d'HTG d'origine procaryote, tandis que *B. tabaci* possède un gène eucaryote qui code pour une BCAT (branched chain amino acid transaminase), qui intervient généralement dans la première étape de la dégradation des acides aminés branchés, mais qui pourrait également réaliser la réaction inverse (Luan *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2016) (**Figure 12**). Ainsi, la biosynthèse de ces métabolites pourrait être réalisée par la complémentation métabolique de *Portiera* par un symbiote secondaire et/ou par l'hôte. Toutefois, ces hypothèses reposant sur des données génomiques, les contributions respectives de l'hôte des symbiotes secondaires à la biosynthèse de ces métabolites ne sont pas connues. En outre, nous savons peu de choses sur la fonctionnalité et la régulation des HTG de l'hôte.

L'impact des symbiotes sur le métabolisme de leur hôte ne se limite pas à la production de métabolites. En effet, les symbiotes secondaires dépendent de l'hôte, du symbiote primaire ou d'autres symbiotes secondaires pour leur approvisionnement en nutriments qu'ils ne sont pas capables de synthétiser *de novo* par eux-mêmes, dont certains acides aminés non-essentiels, des nucléotides et nucléosides, mais aussi certains acides aminés essentiels (Douglas, 2014). Ainsi les symbiotes secondaires peuvent être associés à un coût physiologique permanent pour l'hôte (Zytyńska *et al.* 2021). En produisant et en consommant des métabolites, les symbiotes secondaires peuvent profondément affecter le métabolisme de leur hôte, avec potentiellement d'importantes conséquences écologiques pour ce dernier. Par exemple, chez les hémiptères

phloémophages, la capacité d'un insecte à exploiter différentes plantes est dépendante de ses capacités métaboliques. En effet, la composition de la sève phloémienne entre différentes espèces de plantes est variable, constituant ainsi différentes niches nutritives (Weibull, 1987; Douglas, 1993; Sandström et Pettersson, 1994). Dans un tel environnement contrasté en nutriments, il est envisageable que, par leur influence sur le métabolisme de l'hôte, les symbiotes secondaires puissent influencer positivement ou négativement la capacité de leur hôte à utiliser une espèce de plante donnée, et ainsi contribuer à élargir ou réduire sa gamme de plantes hôtes.

Nonobstant toutes ces études, l'impact des symbiotes secondaires sur le métabolisme de B. tabaci et les conséquences sur son écologie demeurent encore largement inexplorées.

4. Objectifs et organisation de la thèse

L'introduction de ce manuscrit a souligné l'importance de la symbiose dans l'adaptation des insectes à leur environnement. L'acquisition d'un nouveau symbiote peut s'accompagner de changements phénotypiques et comportementaux qui pourraient profondément affecter l'écologie et l'évolution de son hôte. Notamment, lorsqu'ils facilitent l'exploitation d'une nouvelle niche écologique, les symbiotes pourraient favoriser la diversification de leur hôte. Toutefois, il existe encore peu de démonstrations empiriques de ce phénomène. Au cours de cette thèse, nous proposons d'étudier si et comment les symbiotes influencent le choix et l'utilisation de la plante hôte par les insectes en utilisant comme modèle d'étude *B. tabaci*. Cet insecte est particulièrement adapté à l'étude de ces questions car il héberge, en plus de son symbiote primaire obligatoire, différents symbiotes secondaires. Les données génomiques disponibles suggèrent que ces symbiotes pourraient profondément affecter le métabolisme de leur hôte et influencer sa capacité à exploiter un environnement contrasté en nutriments, mais ces questions demeurent encore inexplorées.

Afin de répondre à ces questions, dans ce projet de thèse, nous avons étudié trois lignées de laboratoire *B. tabaci* appartenant aux groupes Q1 ou Q2 de l'espèce MED (les seuls représentants du complexe d'espèces *B. tabaci* en France), associées à différentes communautés symbiotiques (**Tableau 5**) : AA(Q1-HW), BB(Q1-HR) et CC(Q2-ARW). Ces trois lignées se différencient par leur génotype nucléaire, que nous avons arbitrairement nommé AA, BB ou CC. Ce génotype est donné pour des femelles diploïdes, ce qui justifie l'utilisation d'un code à deux lettres. Ainsi, les mâles étant haploïdes, ils ne se verront attribuer qu'un seul jeu de chromosomes : A, B ou C. Ces trois lignées se distinguent aussi par leur cytotype. Par opposition au génotype, le cytotype désigne le compartiment cytoplasmique d'un individu, il est donc hérité par la mère. Les trois cytotypes se différencient par leur génome mitochondrial (ici l'haplotype mitochondrial Q1 ou Q2) et leur communauté de symbiotes secondaires (A : *Arsenophonus*, H : *Hamiltonella*, R : *Rickettsia*, W : *Wolbachia*).

Tableau 5. Lignées *B. tabaci* étudiées au cours de cette thèse.

Lignée	Génotype Nucléaire ^a	Cytotype		Année	Origine	
		Groupe mitochondrial	Symbiotes secondaires ^b		Localité	Plante
AA(Q1-HW)	AA	Q1	HW	2012	Tympaki (Grèce)	Aubergine (<i>Solanum sp.</i>)
BB(Q1-HR)	BB	Q1	HR	2012	Les Ponts-de-Cé (France)	Mandevilla (<i>Mandevilla sp.</i>)
CC(Q2-ARW)	CC	Q2	ARW	2018	Lyon (France)	Lantana (<i>Lantana camara</i>)

^a Le génotype nucléaire est donné ici pour des femelles diploïdes.

^b A : *Arsenophonus*, H : *Hamiltonella*, R : *Rickettsia*, W: *Wolbachia*.

De manière à s'affranchir de potentielles différences génétiques nucléaires entre lignées, nous avons choisi d'utiliser dans ce projet des femelles hybrides F1 issues de croisements réciproques entre lignées. Cette méthode permet d'obtenir, en une seule génération, des femelles partageant le même génotype nucléaire mais associées à différents cytotypes. Par exemple, le croisement d'une femelle vierge AA(Q1-HW) avec un mâle B(Q1-HR) engendre des descendantes F1 de génotype nucléaire hybride AB qui ont hérité du cytotype maternel Q1-HW, appelées AB(Q1-HW). Le croisement réciproque d'une femelle BB(Q1-HR) avec un mâle A(Q1-HW) engendre des femelles de même génotype nucléaire hybride BA, mais associées au cytotype Q1-HR, alors notées BA(Q1-HR) (**Tableau 6**).

Tableau 6. Génotype nucléaire et cytotype des femelles F1 *B. tabaci* obtenues par croisement.

		Mère (F0)		
		AA(Q1-HW)	BB(Q1-HR)	CC(Q2-ARW)
Père ^a (F0)	A(Q1-HW)	AA(Q1-HW)	BA(Q1-HR)	CA(Q2-ARW)
	B(Q1-HR)	AB(Q1-HW)	BB(Q1-HR)	CB(Q2-ARW)
	C(Q2-ARW)	AC(Q1-HW)	BC(Q1-HR)	CC(Q2-ARW)

^a Le génotype des pères F0 (A, B ou C) n'est indiqué que par une seule lettre étant donné que les mâles *B. tabaci* sont haploïdes.

Les résultats obtenus sont présentés dans trois chapitres. Les deux premiers correspondent chacun à un article rédigé en anglais (publié ou en préparation, respectivement). Le troisième chapitre, rédigé en français, présente les travaux en cours.

Dans le premier chapitre (**Chapitre 1**), nous avons cherché à déterminer expérimentalement **l'influence des symbiotes secondaires sur l'utilisation de la plante hôte par *B. tabaci***. Afin de mieux appréhender les interactions entre *B. tabaci*, ses symbiotes et les plantes, nous avons tout d'abord comparé les traits d'histoire de vie et la physiologie des trois lignées évoquées précédemment (**Tableau 5**) quand elles sont élevées sur différentes plantes hôtes. Nous avons combiné ce travail avec des analyses métaboliques visant à caractériser les propriétés nutritives de ces plantes. Ce premier travail nous a ensuite permis d'explorer les contributions relatives du génotype nucléaire et du cytotype à la capacité de *B. tabaci* à utiliser ces plantes, en utilisant des femelles hybrides génétiquement homogènes, mais associées à des cytotypes différents (**Tableau 6**).

Dans le second chapitre de ce manuscrit (**Chapitre 2**), nous avons exploré **l'influence de différentes combinaisons de symbiotes secondaires sur la sélection de la plante hôte par *B. tabaci***. Pour cela, nous avons évalué les contributions relatives du génotype nucléaire et du cytotype au choix de plante pour la ponte par *B. tabaci*.

Le troisième objectif de cette thèse, qui en constitue le dernier chapitre (**Chapitre 3**), était d'explorer **l'impact des symbiotes secondaires sur les capacités métaboliques de leur hôte**. En agissant comme des sources et / ou des siphons de métabolites, notamment d'acides aminés essentiels, nous avons émis l'hypothèse que les symbiotes secondaires pourraient moduler la capacité de leur hôte à exploiter un milieu nutritif contrasté. En utilisant différents milieux nutritifs artificiels de composition contrôlée, nous avons testé l'incidence de différentes combinaisons de symbiotes secondaires sur la survie et la capacité de *B. tabaci* à produire des œufs lors de carences nutritionnelles impliquant des acides aminés essentiels spécifiques.

Je terminerai mon manuscrit de thèse par une discussion générale qui intégrera les différents résultats obtenus de manière à proposer des hypothèses quant à l'influence des symbiotes sur le métabolisme, le comportement et l'écologie de leur hôte. J'aborderai également l'implication des symbiotes dans le processus de diversification et de spéciation de leur hôte.

Cytotype affects the capability of the whitefly *Bemisia tabaci* MED species to feed and oviposit on an unfavorable host plant

Sylvain Benhamou ^{a,b}, Isabelle Rahioui ^b, Hélène Henri ^a, Hubert Charles ^b, Pedro Da Silva ^b, Abdelaziz Heddi ^b, Fabrice Vavre ^a, Emmanuel Desouhant ^a, Federica Calevro ^{b,#}, Laurence Mouton ^{a,#}

^aUniversit e de Lyon, Université Lyon 1, CNRS, VetAgro Sup, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, UMR 5558, F-69622 Villeurbanne, France

^bUniv Lyon, INRAE, INSA Lyon, BF2I, UMR 203, 69621 Villeurbanne, France
Running head: Cytotype determines *B. tabaci* host plant utilization

#Address correspondence to Federica Calevro, federica.calevro@inrae.fr, and Laurence Mouton, laurence.mouton@univ-lyon1.fr
Federica Calevro and Laurence Mouton contributed equally to this work.

Article publi e dans le journal *mBio*, 2021 Nov 16;e0073021, doi: 10.1128/mBio.00730-21

Avant-propos

L'objectif de ce premier chapitre était de déterminer si et comment les symbiotes secondaires jouent un rôle dans l'utilisation de la plante hôte chez *Bemisia tabaci*.

Dans la première partie de cette étude, nous avons réalisé un travail exploratoire visant à comparer les réponses phénotypiques et physiologiques de nos trois lignées de *B. tabaci* [AA(Q1-HW), BB(Q1-HR) et CC(Q2-ARW)] et de leurs symbiotes, quand elles sont élevées sur différentes espèces de plantes hôtes. Nous avons combiné ce travail avec des analyses métaboliques visant à caractériser les propriétés nutritives de ces plantes, afin de choisir les espèces représentant des environnements contrastés pour *B. tabaci*. Dans la seconde partie de cette étude, nous avons cherché à déterminer l'impact du cytotype (*i.e.*, le compartiment cytoplasmique d'un individu, comprenant le cortège symbiotique et les mitochondries) sur le métabolisme de *B. tabaci*, ainsi que son influence sur la capacité de l'insecte à exploiter un environnement contrasté en nutriments.

Deux critères ont guidé le choix des plantes utilisées dans cette étude : 1) des propriétés nutritives contrastées et 2) notre facilité à les cultiver au laboratoire. Nous avons initialement considéré cinq espèces de plantes hôtes de *B. tabaci*, issues de trois familles botaniques différentes : le tabac (*Nicotiana tabacum*) et la tomate (*Solanum lycopersicum*) (Solanaceae) ; le coton (*Gossypium hirsutum*) et l'hibiscus (*Hibiscus moscheutos*) (Malvaceae) ; et le lantana (*Lantana camara*) (Verbenaceae). Nous avons analysé le contenu en acides aminés libres de ces cinq plantes, et obtenu trois profils nutritifs différents : un par famille botanique. Nous avons choisi d'utiliser une plante de chaque profil nutritif, l'espèce la plus facile à cultiver : le tabac, l'hibiscus et le lantana.

Une fois ces choix réalisés, nous avons analysé le phénotype (fécondité, taux d'éclosion des œufs) et la physiologie (profil en acides aminés libres) des femelles *B. tabaci* de nos trois lignées, élevées sur l'hibiscus, le lantana ou le tabac. Nous avons également étudié le phénotype de leurs symbiotes (densité symbiotique). Notre étude a révélé une influence de la plante hôte sur tous les traits mesurés, ce qui pourrait être expliqué en partie par des différences de propriétés nutritives entre ces trois plantes. La fécondité des insectes était plus faible sur le lantana que sur l'hibiscus et le tabac, indiquant que cette plante est la moins favorable pour *B. tabaci*. Les femelles élevés sur le lantana ont également montré une densité symbiotique plus importante, et un profil en acides aminés libres spécifique, caractérisé par une plus forte proportion d'acides aminés essentiels (produits les symbiotes) dans le corps de l'insecte.

Ensemble, ces résultats suggèrent une mobilisation des symbiotes nutritionnels en réponse aux besoins métaboliques de leur hôte sur le lantana. Par ailleurs, le lantana était la seule plante pour laquelle nous avons observé des différences de fécondité entre nos lignées de *B. tabaci*.

Afin de déterminer les contributions relatives du génotype nucléaire et du cytotype des insectes aux différences de fécondité observées sur le lantana, avons utilisé des femelles hybrides F1 issues de croisements entre ces lignées. Ces femelles F1 partagent le même génotype nucléaire hybride, mais possèdent des cytotypes différents : Q1-HR, Q1-HW ou Q2-ARW. Grâce à cela, nous avons pu montrer que le cytotype influence la fécondité et le profil en acides aminés libres de *B. tabaci* sur le lantana. Plus particulièrement, les cytotypes Q1-HR et Q2-ARW ont montré une meilleure fécondité que le cytotype Q1-HW, et la signature métabolique d'une production plus importante d'acides aminés essentiels. Ces cytotypes étant associés à différents cortèges de symbiotes secondaires, nous en avons conclu que le rôle de ces symbiotes dans l'exploitation de la plante hôte, potentiellement via leur contribution métabolique, était très probable.



Cytotype Affects the Capability of the Whitefly *Bemisia tabaci* MED Species To Feed and Oviposit on an Unfavorable Host Plant

Sylvain Benhamou,^{a,b} Isabelle Rahioui,^b Hélène Henri,^a Hubert Charles,^b Pedro Da Silva,^b Abdelaziz Heddi,^b Fabrice Vavre,^a Emmanuel Desouhant,^a Federica Calevro,^b Laurence Mouton^a

^aUniversit e de Lyon, Université Lyon 1, CNRS, VetAgro Sup, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, UMR 5558, Villeurbanne, France

^bUniv Lyon, INRAE, INSA Lyon, BF2I, UMR 203, Villeurbanne, France

Federica Calevro and Laurence Mouton contributed equally to this work.

ABSTRACT The acquisition of nutritional obligate primary endosymbionts (P-symbionts) allowed phloem-feeding insects to feed on plant sap and thus colonize novel ecological niches. P-symbionts often coexist with facultative secondary endosymbionts (S-symbionts), which may also influence their hosts' niche utilization ability. The whitefly *Bemisia tabaci* is a highly diversified species complex harboring, in addition to the P-symbiont "*Candidatus Portiera aleyrodidarum*," seven S-symbionts whose roles remain poorly understood. Here, we compare the phenotypic and metabolic responses of three *B. tabaci* lines differing in their S-symbiont community, reared on three different host plants, hibiscus, tobacco, or lantana, and address whether and how S-symbionts influence insect capacity to feed and produce offspring on those plants. We first show that hibiscus, tobacco, and lantana differ in their free amino acid composition. Insects' performance, as well as free amino acid profile and symbiotic load, were shown to be plant dependent, suggesting a critical role for the plant nutritional properties. Insect fecundity was significantly lower on lantana, indicating that it is the least favorable plant. Remarkably, insects reared on this plant show a specific amino acid profile and a higher symbiont density compared to the two other plants. In addition, this plant was the only one for which fecundity differences were observed between lines. Using genetically homogeneous hybrids, we demonstrate that cytotype (mitochondria and symbionts), and not genotype, is a major determinant of females' fecundity and amino acid profile on lantana. As cytotypes differ in their S-symbiont community, we propose that these symbionts may mediate their hosts' suitable plant range.

IMPORTANCE Microbial symbionts are universal in eukaryotes, and it is now recognized that symbiotic associations represent major evolutionary driving forces. However, the extent to which symbionts contribute to their hosts' ecological adaptation and subsequent diversification is far from being fully elucidated. The whitefly *Bemisia tabaci* is a sap feeder associated with multiple coinfecting intracellular facultative symbionts. Here, we show that plant species simultaneously affect whiteflies' performance, amino acid profile, and symbiotic density, which could be partially explained by differences in plant nutritional properties. We also demonstrate that, on lantana, the least favorable plant used in our study, whiteflies' performance is determined by their cytotype. We propose that the host plant utilization in *B. tabaci* is influenced by its facultative symbiont community composition, possibly through its impact on the host dietary requirements. Altogether, our data provide new insights into the impact of intracellular microorganisms on their animal hosts' ecological niche range and diversification.

KEYWORDS cytotype, symbionts, plant utilization, *Bemisia tabaci*

Microbial symbionts have been associated in numerous phytophagous insects with adaptive changes that profoundly influence their interactions with host plants. For instance, symbionts can supplement their hosts with essential and otherwise limiting

Citation Benhamou S, Rahioui I, Henri H, Charles H, Da Silva P, Heddi A, Vavre F, Desouhant E, Calevro F, Mouton L. 2021. Cytotype affects the capability of the whitefly *Bemisia tabaci* MED species to feed and oviposit on an unfavorable host plant. *mBio* 12:e00730-21. <https://doi.org/10.1128/mBio.00730-21>.

Invited Editor Martin Kaltenpoth, Johannes Gutenberg University of Mainz

Editor Edward G. Ruby, University of Hawaii at Manoa

Copyright   2021 Benhamou et al. This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution 4.0 International license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Address correspondence to Federica Calevro, federica.calevro@inrae.fr, or Laurence Mouton, laurence.mouton@univ-lyon1.fr.

Received 22 June 2021

Accepted 4 October 2021

Published 16 November 2021

nutrients, detoxify plant defense compounds, or break down plant polymers (1, 2). In sap-feeding hemipteran insects, the acquisition of nutritional “primary” obligate bacterial endosymbionts (P-symbionts) is considered a pivotal evolutionary event that allowed them to thrive on plant sap, a diet where amino acids and vitamins essential to their growth are limited (3, 4). P-symbionts are strictly maternally inherited and are intracellular, housed in the cytoplasm of specialized host cells, the bacteriocytes, that constitute symbiosis-dedicated organs, the bacteriomes (5), localized in the insect abdomen (6–8).

In addition to P-symbionts, hemipterans often carry “secondary” facultative endosymbionts (S-symbionts) that are not essential for their hosts’ survival. S-symbiont-mediated phenotypes are diverse. Some S-symbionts are reproductive parasites biasing sex ratios in favor of daughters or inducing incompatibility in uninfected zygotes (for a review, see reference 9); others are mutualists and confer benefits to their hosts (10, 11), such as protection against natural enemies (12) or thermal tolerance (13). S-symbionts can be either localized inside or outside the bacteriocytes, and, although their transmission is mainly vertical, they can also be transmitted horizontally (14), for instance, through the host plant when individuals share the same feeding sites (15, 16).

Given their labile nature, S-symbionts are suggested to form a “horizontal gene pool,” and their acquisition can confer beneficial traits and contribute to the host adaptation to novel ecological niches (17, 18). Indeed, P-symbionts genomes are particularly prone to erosion and thus to a decay of their metabolic functions (19–22); S-symbionts may complement or replace parts of the degenerated functions that P-symbionts can no longer fulfill. As an example, “*Candidatus Serratia symbiotica*” S-symbiont has become a coprimary symbiont in the aphid *Cinara cedri* and contributes to the symbiotic metabolism by producing tryptophan, which cannot be synthesized by the reduced genome of the P-symbiont, *Buchnera aphidicola* (23). Aphid S-symbionts have also been suggested to contribute to host plant adaptation, leading to specialized host-adapted races, but this hypothesis remains controversial. Several studies failed to support an S-symbiont-mediated plant utilization (24–26), but other works found a significant relationship between the adaptation to a given host plant and the presence of specific S-symbionts within (27–29) and across (17, 30) aphid species. As an example, in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*, the S-symbiont “*Candidatus Regiella insecticola*” has been associated with the use of the white clover *Trifolium repens* (28). Similarly, the S-symbiont *Arsenophonus* has been associated with the specialization on the black locust *Robinia pseudoacacia* in the aphid *Aphis craccivora* (31).

Bemisia tabaci (Hemiptera: Aleyrodidae) is a highly diversified complex of morphologically indistinguishable species. Analyses based on partial mitochondrial *mtCOI* sequences determined at least 42 putative species (32–36) that include several genetic groups, here referred to as mitochondrial groups. All *B. tabaci* species complex members harbor a P-symbiont, the gamma-proteobacterium “*Candidatus Portiera aleyrodidarum*” (37). “*Ca. Portiera*” has a highly reduced genome (357 kbp) compared to the ones of evolutionarily-related free-living bacteria and cannot fully satisfy the metabolic need of its host since some of the essential amino acid biosynthetic pathways are incomplete. Moreover, the supply of vitamins and cofactors by “*Ca. Portiera*” seems to be restricted to carotenoids (38).

In addition to “*Ca. Portiera*,” seven S-symbionts have been identified in *B. tabaci* (genera *Arsenophonus*, *Cardinium*, *Fritschea*, *Hamiltonella*, *Hemipteriphilus*, *Rickettsia*, and *Wolbachia*), with up to four present in the same insect body (39). These S-symbionts colocalize with “*Ca. Portiera*” within bacteriocytes, and most of them can infect other tissues (6). They also have variable prevalence in *B. tabaci* populations. On the contrary, *Arsenophonus* and *Hamiltonella* are confined in the bacteriocytes and are almost fixed, but mutually exclusive, in the genetic groups in which they are found (39, 40).

Previous studies reported correlations between the S-symbiont composition and *B. tabaci* mitochondrial groups, both across (39) and within (40, 41) species. Moreover, different *B. tabaci* genetic groups have been found associated with particular biological and ecological features, such as geographic distribution (39) or host plant range (42, 43). These observations raise the possibility that S-symbionts may condition *B. tabaci* adaptation to its

environment and its diversification, even though specific S-symbiont-host plant associations have never been documented to date in this species complex (39).

Analyses of *B. tabaci* S-symbiont genomes suggest that some of them could play a nutritional role in collaboration with the P-symbiont. For instance, the *Hamiltonella* genome encodes genes (*dapB*, *dapF*, *lysA*) involved in lysine biosynthesis that are lost or nonfunctional in “*Ca. Portiera*” (44). These genes are also present in the genome of *B. tabaci*, acquired from bacteria through ancient gene transfer events (45). These data suggest that the lysine biosynthesis could be achieved by the complementary interaction between either “*Ca. Portiera*” and *Hamiltonella*, “*Ca. Portiera*” and the insect host, or by a collaboration of the three of them. *In silico* genomic studies (44, 46) and experimental demonstrations (47, 48) also indicate that *Hamiltonella* in *B. tabaci* and *Arsenophonus* in *Trialeurodes vaporariorum*, a related whitefly species, can provide their hosts with B vitamins that “*Ca. Portiera*” can no longer provide. Conversely, other S-symbionts than *Hamiltonella* rely on the insect host or P- or other S-symbionts for the provision of nutrients (e.g., nonessential amino acids, nucleotides, and nucleosides) (49, 50). Therefore, S-symbionts are expected to impact their hosts’ dietary requirements, acting either as sources or sinks of essential metabolites. As the phloem sap composition varies between different plant species (51–54), S-symbionts could thereby positively or negatively influence the ability of insect hosts to exploit plants and then contribute to broaden or narrow their range of suitable host plants.

The aims of the present study were (i) to investigate the phenotypic and metabolic responses of *B. tabaci* and its symbiotic community to different host plants, and (ii) to decipher whether and how S-symbionts influence insect capacity to feed and produce offspring on those plants. Our results indicate that less suitable plants may constitute selective environments that particular cytotypes (designating insect line cytoplasmic features, including the mitochondrial genome and the intracellular symbiotic bacterial community) may help to exploit.

RESULTS

Plant amino acid content. The plants used here, hibiscus (*Hibiscus moscheutos*), lantana (*Lantana camara*), and tobacco (*Nicotiana tabacum*), have been chosen because they are natural hosts for *B. tabaci* Mediterranean (MED) species. Their foliar free amino acid contents were measured through high-pressure liquid chromatography (HPLC) to test whether these plants have different nutritional properties. Amino acids were classified into two groups, amino acids considered essential (EAAs) (Arg, arginine; His, histidine; Ile, isoleucine; Leu, leucine; Lys, lysine; Met, methionine; Phe, phenylalanine; Thr, threonine; Trp, tryptophan; Val, valine) and nonessential (NEAAs) (Ala, alanine; Asn, asparagine; Asp, aspartate; Gln, glutamine; Glu, glutamate; Gly, glycine; Pro, proline; Ser, serine; Tyr, tyrosine) for *B. tabaci* (55). These three plants differed in their overall amount of EAAs (value of the *F* statistic [$F_{2,13}$] = 5.25, $P = 0.023$), which were greater in tobacco but similar in hibiscus and lantana. The opposite trend occurred for the total NEAA content ($F_{2,13} = 3.34$, $P = 0.070$) (Fig. 1A). Looking at individual amino acids, the highest variation has been seen for 7 EAAs (His, Ile, Leu, Phe, Thr, Trp, and Val) and 3 NEAAs (Ala, Glu, and Ser) (Fig. 1B). Free amino acid amounts were analyzed using linear model (LM) (see details in “Statistical analyses”).

Fecundity and hatching rate of *B. tabaci* lines on different plants. Experiments were performed with three laboratory lines [namely, AA(Q1-HW), BB(Q1-HR), and CC(Q2-ARW)] from the *B. tabaci* MED species that belong to either the mitochondrial groups Q1 or Q2 and that are associated with different S-symbionts (Table 1). Whiteflies regularly reared on hibiscus in our laboratory conditions were transferred onto lantana and tobacco or were maintained on hibiscus for one generation. Female fecundity (number of oviposited eggs) and hatching rate on the same plant they developed on were used as performance indicators (Fig. 2; experimental design in Fig. S1A in the supplemental material). There was a significant effect of the interaction between the host plant species and the insect line on fecundity [$\chi^2(4) = 18.05$, $P = 0.001$] (Fig. 2A). On hibiscus and tobacco, fecundity was similar and homogeneous between lines. However, fecundity was significantly lower on lantana, with differences between lines ($P < 0.05$). Specifically, BB(Q1-HR) females laid 1.82 times more

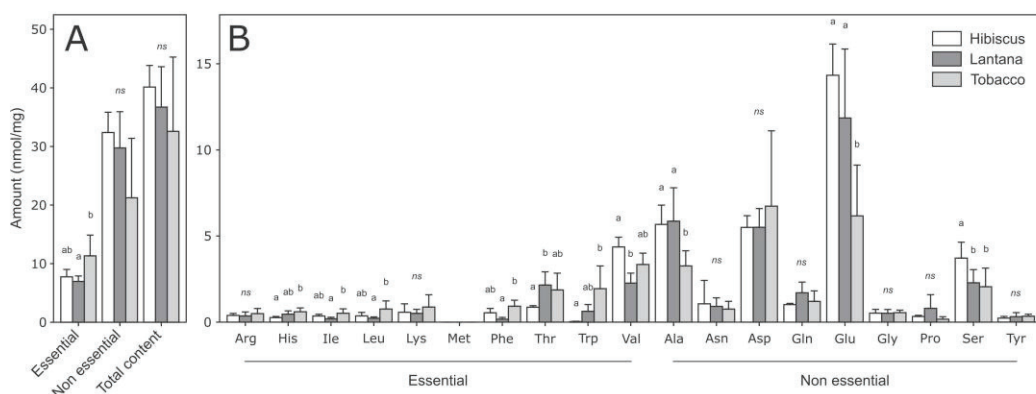


FIG 1 Foliar free amino acid content of three host plants of *B. tabaci* determined through HPLC analysis. (A) Essential, nonessential, and total amino acid contents; (B) individual amino acid content. The amino acid amount is expressed in $\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}$ of dried tissue \pm standard deviation (SD) ($n = 5$ replicates per plant). For each amino acid, comparisons between plants were performed by one-way ANOVA. Letters indicate significant differences between plants for a given amino acid ($P < 0.05$) determined by Tukey's multiple comparisons analysis. ns, nonsignificant statistical differences. Ala, alanine; Arg, arginine; Asn, asparagine; Asp, aspartate; Gln, glutamine; Glu, glutamate; Gly, glycine; His, histidine; Ile, isoleucine; Leu, leucine; Lys, lysine; Met, methionine; Phe, phenylalanine; Pro, proline; Ser, serine; Thr, threonine; Trp, tryptophan; Tyr, tyrosine; Val, valine.

eggs (mean, 21.35; standard error [SE], 1.50) than AA(Q1-HW) females (mean, 11.7; SE, 1.50) ($P = 0.003$), while line CC(Q2-ARW) had an intermediate fecundity (mean, 16.36; SE, 1.99). Regarding egg hatching rate, we found an additive effect of the plant species [$\chi^2(2) = 53.42$, $P < 0.001$] and of the insect line [$\chi^2(2) = 6.92$, $P = 0.031$], without interaction between these two factors [$\chi^2(4) = 5.15$, $P = 0.27$] (Fig. 2B). The hatching rate differed between each plant species ($P < 0.05$): the lowest was observed on tobacco, while it was higher on hibiscus and lantana. In general, the mean hatching rate was significantly higher in line BB(Q1-HR) than in CC(Q2-ARW) ($P = 0.019$). AA(Q1-HW) had an intermediate hatching rate. Fecundity and hatching rates were analyzed with a mixed generalized linear model (GLM) with a negative binomial and a binomial error structure, respectively.

In order to determine whether the deleterious effect of lantana on female fecundity was due to the fact that females had spent their entire larval development on this plant, we also measured the fecundity of females developed on one plant (the donor) and subsequently transferred on the same plant or one of the two others (recipient plants). We tested all the possible combinations (experimental design in Fig. S2A) (Fig. S2B). Results indicated that, whatever the donor plant or the insect line used, there were significant differences in *B. tabaci* fecundity between the different recipient plants [$\chi^2(2) = 142.92$, $P < 0.001$]: fecundity was lower on lantana than on hibiscus or tobacco ($P < 0.05$) (Fig. S2C). There was also a significant interaction between the donor plant and the insect line [$\chi^2(4) = 33.12$, $P < 0.001$]. Indeed, when larval development occurred on hibiscus or tobacco, fecundity on one of the three recipient plants was similar and homogeneous between lines. However, for lines AA(Q1-HW) and CC(Q2-ARW), fecundity was significantly lower when lantana was the donor plant, while it did not impact the line BB(Q1-HW) (Fig. S2D). Therefore, we demonstrated that both larval development, with differences between lines, and/or adult feeding on lantana

TABLE 1 *Bemisia tabaci* lines used in this study

<i>Bemisia tabaci</i> line	Cytotype			Collection information		
	Nuclear genotype	Mitochondrial group	Secondary endosymbionts ^a	Yr	Location	Plant
AA(Q1-HW)	AA	Q1	HW	2012	Tympaki, Greece	Eggplant (<i>Solanum</i> sp.)
BB(Q1-HR)	BB	Q1	HR	2012	Les Ponts-de-Cé, France	Mandevilla (<i>Mandevilla</i> sp.)
CC(Q2-ARW)	CC	Q2	ARW	2018	Lyon, France	Lantana (<i>Lantana camara</i>)

^aHW, *Hamiltonella*, *Wolbachia*; HR, *Hamiltonella*, *Rickettsia*; ARW, *Arsenophonus*, *Rickettsia*, *Wolbachia*.

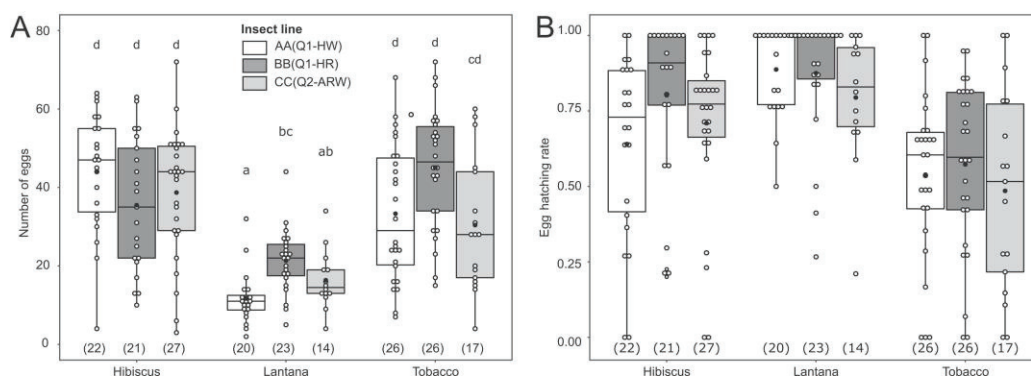


FIG 2 Fecundity and egg hatching rate of *B. tabaci* females belonging to the three lines used here and reared on hibiscus, lantana, or tobacco. (A) Number of eggs laid per female over 7 days. (B) Egg hatching rate after 10 days. Each dot represents one measure for one female, box length represents the interquartile range, and whiskers indicate the lowest and largest data points, excluding outliers. Black horizontal bars correspond to the median, and black dots correspond to the mean. “Insect line” represents nuclear genotype (cytotype); cytotype indicates mitochondrial group plus *S*-symbionts. *S*-symbionts include *A*, *Arsenophonus*; *H*, *Hamiltonella*; *R*, *Rickettsia*; and *W*, *Wolbachia*. Brackets beneath boxes indicate the number of replicates. To decipher the line-plant interaction in panel A, letters above the boxes indicate statistical groups determined by Tukey’s multiple-comparison test ($P < 0.05$).

negatively impact *B. tabaci* fecundity. Fecundity was analyzed with a GLM with a negative binomial error structure.

Amino acid content of *B. tabaci* lines on different plants. The free amino acid profile of *B. tabaci* lines was used as a proxy of their physiological state. HPLC analyses were performed on young females belonging to the three *B. tabaci* lines tested here and reared on hibiscus, lantana, or tobacco (Fig. 3; Tables S1 and S2). There was no statistical

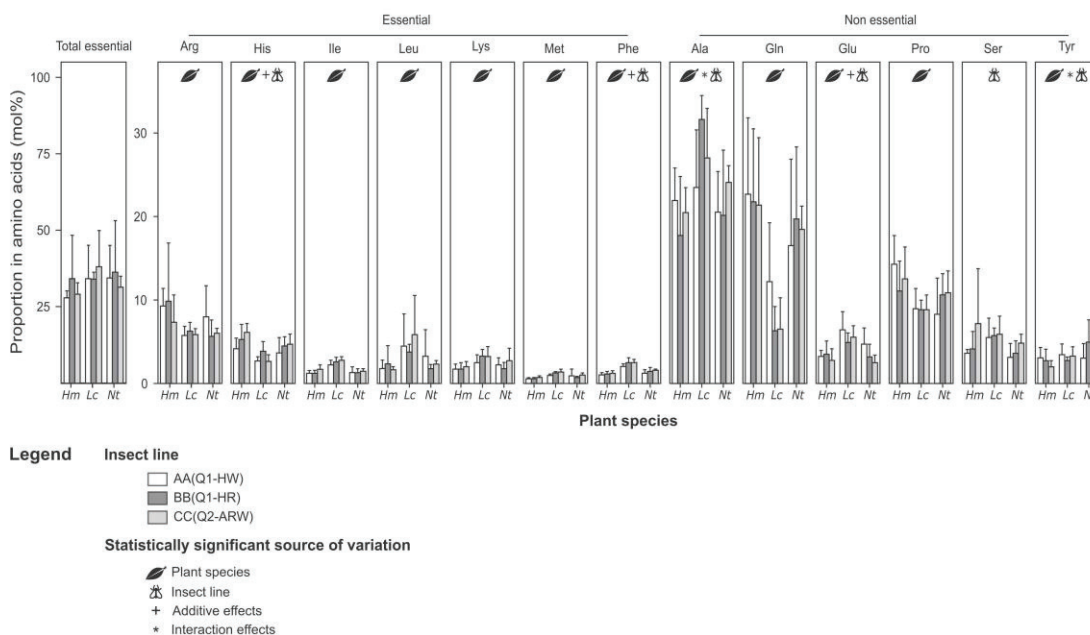


FIG 3 Total essential amino acid content (versus total nonessential amino acids) and individual free amino acid profiles of *B. tabaci* females belonging to the three lines used here and reared on hibiscus, lantana, or tobacco, as determined through HPLC analysis ($n = 8$) (mol%, mean \pm SD). For the total essential amino acids and each individual amino acid, comparisons between plant species and insect lines were performed by two-way ANOVA. There was no difference between host plant or insect lines in the total essential amino acid proportion. Among the 19 amino acids analyzed, only those varying ($P < 0.05$; Table S2 in the supplemental material) are represented (see Table S1 for complete amino acid profile). Ala, alanine; Arg, arginine; Gln, glutamine; Glu, glutamate; His, histidine; Ile, isoleucine; Leu, leucine; Lys, lysine; Met, methionine; Phe, phenylalanine; Pro, proline; Ser, serine; Tyr, tyrosine. Hm, *Hibiscus moscheutos* (hibiscus); Lc, *Lantana camara* (lantana); Nt, *Nicotiana tabacum* (tobacco). “Insect line” represents nuclear genotype (cytotype); cytotype indicates mitochondrial group plus *S*-symbionts. *S*-symbionts include *A*, *Arsenophonus*; *H*, *Hamiltonella*; *R*, *Rickettsia*; and *W*, *Wolbachia*.

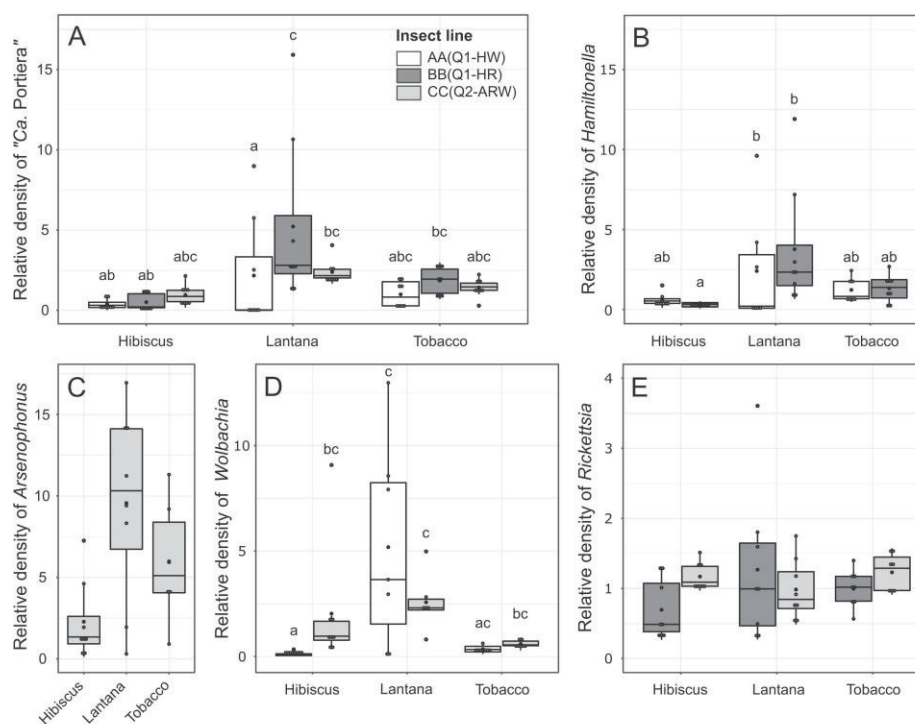


FIG 4 Relative symbiotic density in *B. tabaci* females belonging to the three lines used here and reared on hibiscus, lantana, or tobacco (number of bacterial cells per host cell, $n = 8$). (A) *Ca. Portiera*; (B) *Hamiltonella*; (C) *Arsenophonus*; (D) *Wolbachia*; (E) *Rickettsia*. Each dot represents one measure for one female, box length represents the interquartile range, and whiskers indicate the lowest and largest data points, excluding outliers. Black horizontal bars (within the box) correspond to the median, and black dots correspond to the mean. "Insect line" represents nuclear genotype (cytotype); cytotype indicates mitochondrial group plus S-symbionts. S-symbionts include A, *Arsenophonus*; H, *Hamiltonella*; R, *Rickettsia*; and W, *Wolbachia*. Letters above the boxes indicate statistical groups among line and host plant combinations (Tukey's test, $P < 0.05$).

difference in the proportion of total EAAs (versus NEAAs) between plants or between insect lines ($F_{8,63} = 0.86$, $P = 0.56$). Nevertheless, the proportions of Arg, Glu, Leu, Lys, Met, Gln, Pro, His, Ile, and Phe differed among whiteflies from the different plant species (value of the F statistic [$F_{2,63}$] varied from 5.81 to 67.00 depending on the amino acid, $P < 0.05$). Most of the differences occurred between whiteflies reared on lantana and the ones reared on hibiscus or tobacco, which have similar amino acid profiles ($P < 0.05$) (Table S3). Specifically, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, and Glu were more represented in insects reared on lantana (lantana/hibiscus mean fold change, Ile, 1.84; Leu, 2.43; Lys, 1.65; Met, 1.94; Phe, 2.08; Glu, 1.78). The opposite was found for glutamine (lantana/hibiscus mean fold change, 0.38). The amount of Glu, His, Ile, Ser, and Phe differed among insect lines ($F_{2,63}$ varied from 3.26 to 5.24 depending on the amino acid, $P < 0.05$). For Ala and Tyr, the effect of the host plant species differed between lines, as there was a significant interaction of the two factors ($F_{4,63}$ varied from 3.05 to 3.29 depending on the amino acid, $P < 0.05$). The amount of Ala was homogeneous between insect lines on hibiscus and tobacco, but was moderately higher in CC(Q2-ARW) and significantly higher in BB(Q1-HR) on lantana. The smallest amount of Tyr was found in CC(Q2-ARW) females reared on hibiscus, while the highest levels were found in BB(Q1-HR) and CC(Q2-ARW) females on tobacco. It had an intermediate level in every other line and plant combinations (Fig. 3). Free amino acid proportions in insects were analyzed using LM.

Symbiont density. We found a significant effect of the interaction between the host plant and the insect line on the relative amount (number of bacterial cells per host cell) of *Ca. Portiera* ($F_{2,62} = 3.25$, $P = 0.018$), *Hamiltonella* ($F_{2,40} = 4.26$, $P = 0.021$), and *Wolbachia* ($F_{2,38} = 6.37$, $P = 0.0041$) (Fig. 4A, B, and D). In BB(Q1-HR) and CC(Q2-ARW) lines, *Ca. Portiera* density tended to be higher on lantana than on hibiscus and tobacco.

TABLE 2 Nuclear genotype and cytype of *B. tabaci* F₁ females obtained from crosses of F₀ individuals from three parental lines^a

Father (F ₀) line	Mother (F ₀) line		
	AA(Q1-HW)	BB(Q1-HR)	CC(Q2-ARW)
A(Q1-HW)	AA(Q1-HW)	BA(Q1-HR)	CA(Q2-ARW)
B(Q1-HR)	AB(Q1-HW)	BB(Q1-HR)	CB(Q2-ARW)
C(Q2-ARW)	AC(Q1-HW)	BC(Q1-HR)	CC(Q2-ARW)

^aF₁ females^o represents the nuclear genotype (cytype). For nuclear genotype, letters represent the maternally (first) and the paternally (second) inherited nuclear genotype. Cytype indicates mitochondrial group plus S-symbionts. S-symbionts include A, *Arsenophonus*; H, *Hamiltonella*; R, *Rickettsia*; and W, *Wolbachia*. F₀ male genotypes are indicated by only one letter, as they are haploid.

Alternatively, the line AA(Q1-HW) exhibited the same modest “*Ca. Portiera*” density on the three plants (Fig. 4A). The same pattern was observed for *Hamiltonella* and *Wolbachia* (Fig. 4B and D), as the densities of these two S-symbionts were correlated with the density of “*Ca. Portiera*” (Spearman rho rank test, *Hamiltonella*, $\rho = 0.84$, $P < 0.001$; *Wolbachia*, $\rho = 0.52$, $P < 0.001$). The same trend was observed for the relative amount of *Arsenophonus* in line CC(Q2-ARW) ($F_{2,19} = 3.48$, $P = 0.052$) (Fig. 4C). The relative amount of *Rickettsia* in insects remained at the same level regardless of the host plant they developed on ($F_{2,41} = 1.04$, $P = 0.36$) or the insect line ($F_{1,41} = 4.03$, $P = 0.051$), with no interaction between the two factors ($F_{2,41} = 1.97$, $P = 0.15$) (Fig. 4E). Globally, for each insect line, all symbionts (except *Rickettsia*) had the same densities on hibiscus and tobacco but tended to increase on lantana. Symbiont density was analyzed with LM.

Fecundity and hatching rate of hybrids on lantana according to the cytype.

In order to disentangle whether differences in insects’ performance on lantana were due to females’ genotype or cytype, we performed crosses between parental lines to obtain F₁ hybrids (Table 2, experimental design in Fig. S1B). Crosses produced females bearing the same nuclear genotype but differing in their cytypes [e.g., AB(Q1-HW) and BA(Q1-HR)], or the opposite, i.e., females harboring the same cytype but differing in their genotype [e.g., AA(Q1-HW), AB(Q1-HW), and AC(Q1-HW)]. There was an overall effect of insect cytype on fecundity [$\chi^2(2) = 76.22$, $P < 0.001$], but, for each cytype, there was no difference between genotypes [$\chi^2(6) = 4.66$, $P = 0.59$]. Females with cytype Q1-HW laid the lowest number of eggs, whatever the nuclear genotype (Fig. 5A). We detected no influence of the insect cytype [$\chi^2(2) = 0.034$, $P = 0.76$] or nuclear genotype [$\chi^2(6) = 0.44$,

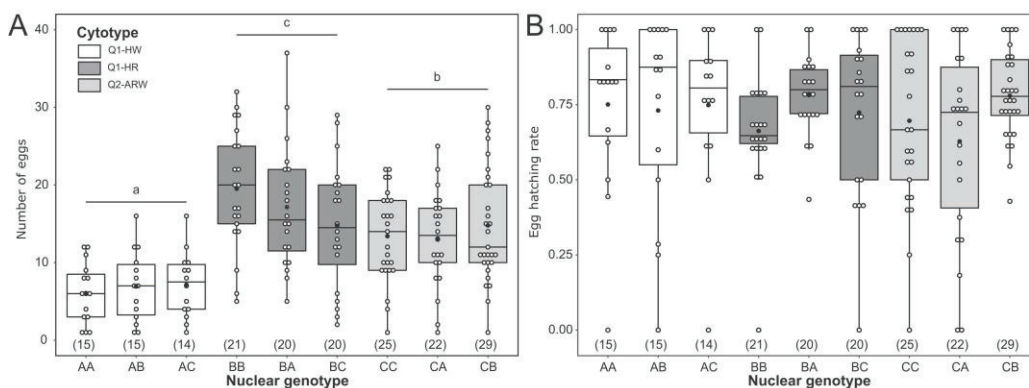


FIG 5 Effect of the insects’ genotype and cytype on *B. tabaci* females’ performance on lantana. (A) Number of eggs laid per female over 7 days; (B) egg hatching rate after 10 days. Each dot represents one measure for one female, box length represents the interquartile range, and whiskers indicate the lowest and largest data points, excluding outliers. Black horizontal bars correspond to the median, and black dots correspond to the mean. Brackets beneath boxes indicate the number of replicates. Letters above the boxes indicate statistical groups among nuclear genotypes and cytypes combinations (Tukey’s test, $P < 0.05$). All individuals are F₁ females obtained from crosses of the laboratory lines AA(Q1-HW), BB(Q1-HR), or CC(Q2-ARW). “F₁ females” represents the nuclear genotype (cytype). For nuclear genotype, letters represent the maternally (first) and the paternally (second) inherited nuclear genotype. Cytype indicates mitochondrial group plus S-symbionts. S-symbionts include A, *Arsenophonus*; H, *Hamiltonella*; R, *Rickettsia*; and W, *Wolbachia*.

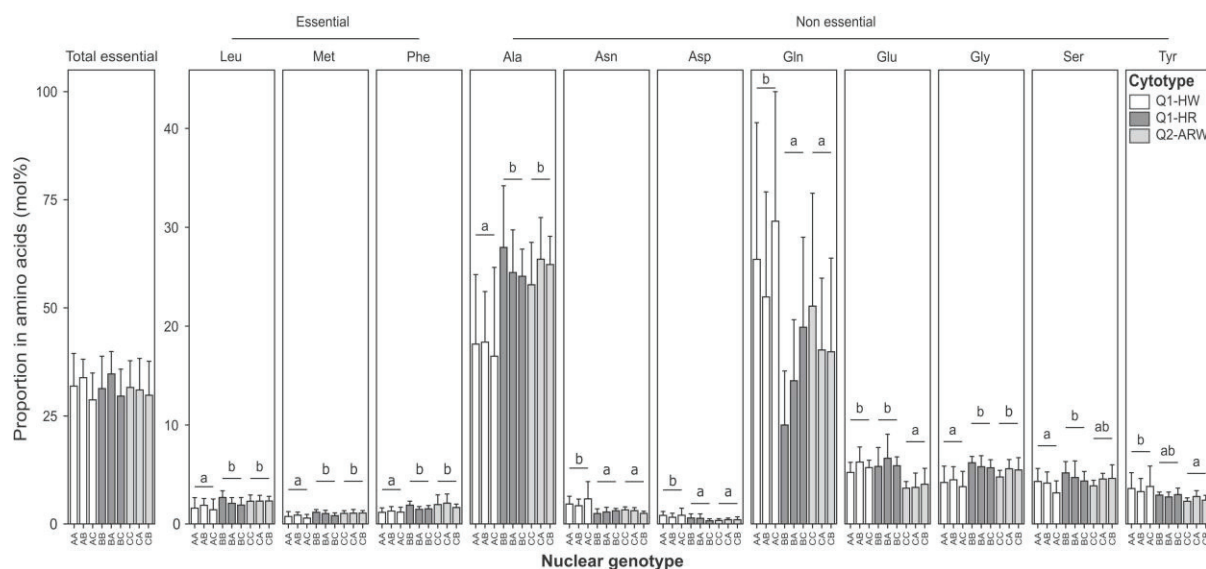


FIG 6 Total essential amino acid proportion (versus total nonessential amino acids) and individual free amino acid profile in *B. tabaci* females on lantana, determined through HPLC analysis on individual females ($n = 8$) (mol%, mean \pm SD). For the total essential amino acids and each amino acid, comparisons between groups were performed by two-way ANOVA. Letters indicate statistical differences between cytotypes ($P < 0.05$) determined by Tukey's multiple comparisons analysis (see Table S6 in the supplemental material for P values). Among the 19 amino acids analyzed, only those varying ($P < 0.05$) are represented (see Table S4 for complete amino acid profile). Ala, alanine; Asn, asparagine; Asp, aspartate; Gln, glutamine; Glu, glutamate; Gly, glycine; Leu, leucine; Met, methionine; Phe, phenylalanine; Ser, serine; Tyr, tyrosine. All individuals are F_1 hybrid females obtained from the crosses of laboratory lineages AA(Q1-HW), BB(Q1-HR), or CC(Q2-ARW). " F_1 females" represents the nuclear genotype (cytotype). For nuclear genotype, letters represent the maternally (first) and the paternally (second) inherited nuclear genotype. Cytotype indicates mitochondrial group plus S-symbionts. S-symbionts include A, *Arsenophonus*; H, *Hamiltonella*; R, *Rickettsia*; and W, *Wolbachia*.

$P = 0.30$] on the egg hatching rate (Fig. 5B). Fecundity and hatching rates were analyzed with a mixed GLM with a negative binomial and a binomial error structure, respectively. These results show an influence of the cytotype and a limited effect of the genotype on female fecundity on lantana.

Free amino acid content in hybrids on lantana. To determine whether the cytotype had an impact on the insect amino acid metabolism, we performed HPLC analyses on F_1 females (Fig. 6; Tables S4 and S5). There was no statistical difference in the proportion of total EAAs (versus total NEAAs) either between insect cytotypes or genotypes ($F_{8,63} = 0.70$, $P = 0.69$). However, 3 out of the 10 EAAs (Leu, Met, and Phe) and 8 out of the 9 NEAAs (Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly, Ser, and Tyr) significantly differed between cytotypes (value of the F statistic [$F_{2,63}$] varied from 3.45 to 17.77 depending on the amino acid, $P < 0.05$). The insect's genotype had no significant effect on the percentage of each individual amino acid (value of the F statistic [$F_{6,63}$] varied from 0.21 to 1.71 depending on the amino acid, $P > 0.05$). Most differences occurred between the Q1-HW cytotype and the two other cytotypes ($P < 0.05$; Table S6). Specifically, Leu, Met, Phe, Ala, and Gly were less abundant, and Asn and Gln were more abundant in Q1-HW females. Free amino acid proportions in insects were analyzed using LM. These results indicate that whiteflies' amino acid profile mainly depends on the insect cytotype.

P- and S-symbiont densities in hybrids. To determine whether, apart from differences in S-symbiont infection status, the phenotypic and physiological variations observed between cytotypes were correlated with different symbiont densities, we analyzed symbiotic density in F_1 females on lantana (Fig. 7). There was neither a significant difference between cytotypes in the relative amount of "*Ca. Portiera*" ($F_{2,61} = 2.34$, $P = 0.11$) and *Hamiltonella* ($F_{1,41} = 3.25$, $P = 0.079$), nor between genotypes within each cytotype for "*Ca. Portiera*" ($F_{6,61} = 1.36$, $P = 0.25$), *Hamiltonella* ($F_{4,41} = 1.28$, $P = 0.29$), and *Arsenophonus* ($F_{2,19} = 1.00$, $P = 0.39$) (Fig. 7A to C). Alternatively, there were significant differences between cytotypes in the relative amount of *Wolbachia* ($F_{1,40} = 4.80$, $P = 0.034$; 1.74 times more abundant in Q2-ARW than in Q1-HW) and

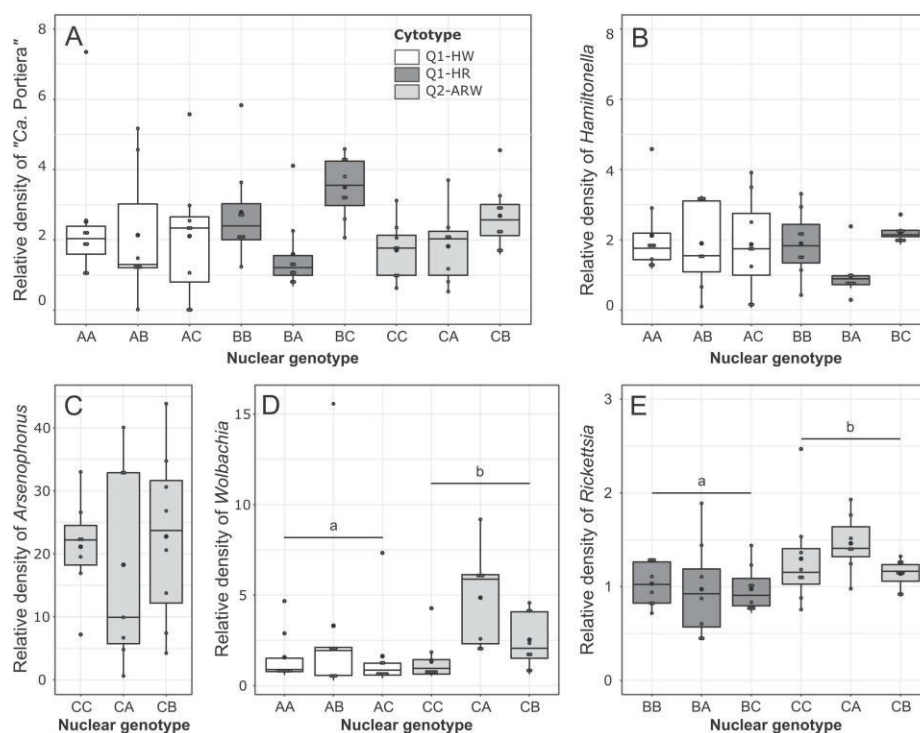


FIG 7 Relative symbiotic densities in *B. tabaci* females on lantana (number of bacterial cells per host cell, $n = 8$). (A) "*Ca. Portiera*"; (B) *Hamiltonella*; (C) *Arsenophonus*; (D) *Wolbachia*; (E) *Rickettsia*. Each dot represents one measure for one female, box length represents the interquartile range, and whiskers indicate the lowest and largest data points, excluding outliers. Black horizontal bars (within boxes) correspond to the median, and black dots correspond to the mean. All individuals are F_1 females obtained from crosses of the laboratory lines AA(Q1-HW), BB(Q1-HR), or CC(Q2-ARW). " F_1 females" represents the nuclear genotype (cytotype). For nuclear genotype, letters represent the maternally (first) and the paternally (second) inherited nuclear genotype. Cytotype indicates mitochondrial group plus S-symbionts. S-symbionts include A, *Arsenophonus*; H, *Hamiltonella*; R, *Rickettsia*; and W, *Wolbachia*. Letters above the boxes indicate statistical groups among nuclear genotype and cytotype combinations (Tukey's test, $P < 0.05$).

Rickettsia ($F_{1,41} = 0.95$, $P = 0.0037$; 1.35 times more abundant in Q2-ARW than in Q1-HR), but not between genotypes within each cytotype for *Wolbachia* ($F_{4,40} = 2.416$, $P = 0.065$) and *Rickettsia* ($F_{4,41} = 4.12$, $P = 0.55$) (Fig. 7D and E). Symbiont density was analyzed using LM.

DISCUSSION

In the present study, we showed that the foliar free amino acid content of three natural host plants for *B. tabaci* MED species, hibiscus, lantana, and tobacco, is nutritionally unbalanced, dominated by nonessential amino acids (NEAAs) (e.g., Glu, Asp, and Ala) with a limited amount of essential amino acids (EAAs). Our data corroborate previous reports for tobacco (56), but data we obtained for hibiscus and lantana are new. They are in agreement with data available for the phloem sap of a large spectrum of plants (51, 52, 54). Interestingly, these three plant species differ in their free amino acid composition: they thus constitute a nutrient-contrasted environment that may lead to different selective pressures for whiteflies and their symbionts.

Plant species influenced all the traits of *B. tabaci* we measured. Importantly, whitefly oviposition was significantly reduced on lantana, indicating that this plant is relatively less favorable for MED Q1 and Q2 than hibiscus or tobacco. This result confirms data previously reported in western Africa, for which oviposition on lantana of MED Q1 individuals was reduced compared to cotton (57). In this study, we also demonstrated that, whatever the plant females were transferred on for oviposition, their fecundity was reduced if they had developed on lantana. Taken together, our results indicate that

lantana is a particularly challenging host for *B. tabaci* complex members. This could explain why, in the field, populations reported on this plant are restricted to MED (39, 41, 58), including in areas where other *B. tabaci* species co-occur, such as the close relative polyphagous MEAM1 (Middle East Asia minor 1) species (59). It is tempting to associate this impairment with the lowest nutritional quality of lantana, which contains the smallest amount of the four EAAs, Ile, Leu, Phe, and Val, among the three plants considered in our study. Besides the fact that these amino acids are considered being essential for the development of all metazoans, studies specifically focusing on whiteflies have shown that small amounts of Ile in artificial diets were correlated with a reduction of their oviposition ability (60). Moreover, experiments conducted on aphids have suggested that plant amino acid content could influence their reproduction (61).

Differences in free amino acid profiles of *B. tabaci* were observed between individuals reared on lantana and the ones that developed on hibiscus and tobacco, indicating that the insect physiological state varies between an unfavorable and a favorable plant. In whiteflies reared on hibiscus and tobacco, the most represented amino acids were Gln, Ala, and Pro (NEAAs) and Arg (EAA). Similar observations have been reported in MED individuals reared on tomato and poinsettia (62, 63) and in the close relative species, MEAM1, on cotton, cucumber, eggplant, and tomato (63–65), which are also considered favorable hosts for MED and MEAM1 species (43, 66–68). In whiteflies reared on lantana, five EAAs (Ile, Leu, Lys, Met, and Phe) and one NEAA (Glu) were more represented than in whiteflies reared on the two other plants. Others, such as glutamine, were less represented. Glutamine plays a central role in amino acid metabolism, as it is the main precursor of the EAAs synthesized by the nutritional symbionts (55, 69). Therefore, the specific amino acid profile found on lantana may indicate an increased production of EAAs, supported by the consumption of the glutamine pool, possibly compensating for specific nutrient deficiencies in the plant. Indeed, some of the most represented EAAs in insects were also less abundant in lantana than in the other two plants. Similarly, MEAM1 individuals reared on low-amino-acid-content plants show a large reduction in glutamine pool regarding other amino acids (64). Alternatively, an increased EAA production in insects may result from larger amounts of EAA precursors in the host plant (i.e., NEAAs). However, there seems to be no correlation between the amount of specific NEAAs in hibiscus, lantana, and tobacco and the relative proportion of specific EAAs in whiteflies reared on those plants. For instance, neither the total NEAAs nor each individual NEAA content was specifically higher in lantana, while insects reared on lantana showed higher proportions of Ile, Leu, Lys, Met, and Phe than other plants. Thus, the increased EAAs production in insects reared on lantana is more likely the result of the insect's metabolic demand, rather than the plant's NEAA content.

Previous studies suggest that plant amino acid content influences symbiont density in *B. tabaci*. A decrease of EAAs abundance in plants has been associated with an increase of "*Ca. Portiera*" relative amount (65), possibly to meet the host metabolic demand. In our study, both P- and S-symbionts densities were higher on lantana. The observed increase in "*Ca. Portiera*" density in whiteflies reared on lantana may compensate for specific EAA deficiencies of this plant. This hypothesis is supported by the observation, reported above, that high "*Ca. Portiera*" relative amounts also correlate with an increase of the EAA content in whiteflies reared on lantana. Overall, these findings are consistent with data available for the aphid *Acyrtosiphon pisum*, where an antibiotic treatment targeting the P-symbiont *B. aphidicola* has resulted in a decrease of EAAs and an accumulation of EAA precursors in the insect body (70). Similar to the increase of "*Ca. Portiera*" density, higher S-symbiont densities in whiteflies reared on lantana could also be important to meet the insect metabolic need on an unfavorable plant, as some of those S-symbionts retained nutritional functions (44–46, 71). However, whiteflies have poor fecundity when reared on lantana. One possible explanation is that high symbiont relative amounts, consistent with an increase of the EAA content in insect body, may not fully satisfy the insect metabolic needs. Moreover, other factors than nutrition, such as mechanical defenses and defensive compounds produced by the plant and not known yet, may also affect whitefly performance.

In addition to the differences in insect fecundity, hatching rate, free amino acid profile, and symbiont densities between plant species, differences had also been observed between whitefly lines on lantana, which was not the case for the two other plants. Our analysis of hybrid females (that share the same nuclear background but different cytotypes) showed that they present different fecundities and free amino acid profiles on lantana. On the contrary, hybrid females harboring the same cytotype but different nuclear genotypes did not show such differences. These data indicate that the cytotype determines both insects' fecundity and free amino acid profile. The whiteflies' cytotype comprises different genetic entities, the host mitochondrial genome and the symbionts. A substantial contribution of the mitochondrial genome to plant resources utilization appears unlikely. Indeed, previous analyses showed that mitochondrial DNA (mtDNA) divergence between MED Q1 and Q2 populations is low, ranging from 0.15 to 1.09% (72). Additionally, Q1-HW and Q1-HR, supposedly the closest cytotypes regarding their mtDNA, are also the most different phenotypically in their responses to plants. Differences related to genetic and/or gene expression variability of the P-symbiont among cytotypes also seems unlikely, given the low genetic variability and the constant metabolic capabilities of "*Ca. Portiera*" within the *B. tabaci* species complex (38, 44, 73–75) and the almost complete loss in the "*Ca. Portiera*" genome of elements for gene expression regulation (that seems to be ensured by the whitefly host) (73). Conversely, considering their genomic capabilities and based on the results presented above, S-symbionts are promising candidates to explain the differences observed between the three *B. tabaci* lines considered here. We also do not exclude the possibility that these observations result from nongenetic maternal effects (76).

Fecundity was higher in Q1-HR and Q2-ARW than in Q1-HW whiteflies. These two cytotypes also showed higher proportions of the EAAs Leu, Met, and Phe, while the opposite was observed for the NEAA Gln. As discussed above, this amino acid signature suggests higher EAA production in Q1-HR and Q2-ARW cytotypes. Therefore, insect fecundity could be mediated by a potential direct or indirect impact of S-symbionts on the amino acid metabolism of their hosts. In *B. tabaci*, S-symbionts could complement the P-symbiont and directly contribute to EAAs biosynthesis, as some of them (e.g., *Hamiltonella* and *Rickettsia*) retained biosynthesis genes lost in "*Ca. Portiera*" (44, 71). Metabolic complementation between P- and S-symbionts may be facilitated in this insect model by their colocalization in the same bacteriocytes (6).

The overall effect of the cytotype on whiteflies may depend on the infection by a single S-symbiont species or result as the net effect of the entire symbiotic community. For example, *Rickettsia* is associated with both cytotypes Q1-HR and Q2-ARW with similar fecundity and free amino acid profile. Interestingly, *Rickettsia* from MEAM1 conserved genes involved in the biosynthesis pathways of EAAs Phe (*tyrB*), Val, Leu, and Ile (*ilvE*) (71). Therefore, *Rickettsia* could benefit its host by contributing to the production of these EAAs. Interestingly, infection by *Rickettsia* has been associated with fitness benefits in MEAM1 natural populations from the United States (77). However, it was not the case in populations from Israel, suggesting geographic differences in the interaction of this symbiont and its host (78). Additionally, fitness benefits associated with the infection by *Rickettsia* populations from the United States were no longer observed years later (79), possibly due to the interaction of the symbiont with the host's nuclear genetic background (80). Under the hypothesis that *Rickettsia* provides fitness benefits to its insect host on lantana, this S-symbiont is expected to be found in higher prevalence in *B. tabaci* natural populations colonizing lantana than other plants. However, in a survey done in Burkina Faso (West Africa), a lower prevalence of *Rickettsia* was reported in MED Q3 populations colonizing lantana (26.6%) than tobacco (90%) (41), but additional studies are needed to tackle this question.

In conclusion, this work shows that host plant utilization by *B. tabaci* is determined by the insect cytotype, most likely by the S-symbiont composition. These results raise two immediate questions. The first addresses the individual roles of S-symbionts. As discussed above, the effect of the cytotype may result from the infection by one or multiple S-symbiont species, and future research should investigate the contribution of each single S-symbiont to the host

phenotype. In this perspective, recent studies have made significant advances in manipulating *B. tabaci* symbiotic community, using antibiotic and thermal treatments (47, 48) that could be actually used to eliminate specific *S*-symbionts and determine the effect of this treatment on phenotypic and physiological parameters of the insect host. The second question relates to the underlying mechanisms by which *S*-symbionts contribute to their host phenotype. We propose that they may contribute to broadening the range of their suitable host plants through their metabolic contribution. Future investigations should consider the use of artificial diets of controlled amino acid composition (60, 70) to accurately determine the influence of *S*-symbionts on their host's amino acid dietary requirements.

MATERIALS AND METHODS

Insects. Three *B. tabaci* lines were used in this study, namely, AA(Q1-HW), BB(Q1-HR), and CC(Q2-ARW) (Table 1). The first two letters (AA, BB, and CC) arbitrarily designate female diploid nuclear genotype. Characters within brackets represent the insect cytotypic [e.g., (Q1-HW)], composed of the mitochondrial group (Q1 or Q2) and its associated symbiotic community (A, *Arsenophonus*; H, *Hamiltonella*; R, *Rickettsia*; W, *Wolbachia*). These lines were reared in stock cages on hibiscus plants in climate-controlled rooms at $26 \pm 1^\circ\text{C}$ and 60% relative humidity with a 14-h light/10-h dark photoperiod. Whitefly mitochondrial group and symbiont infection status were checked on eight individuals per line before and after the experiments, which ensured that the expected cytotypic was correct. The mitochondrial group was identified by PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP), based on the use of the mitochondrial cytochrome oxidase 1 gene sequence (*mtCO1*) as described in Henri et al. (81). Whitefly symbiont infection status was determined using the quantitative PCR (qPCR) protocol described below.

Plants. Plants were grown in insect-free climate-controlled rooms at $26 \pm 1^\circ\text{C}$ and 70% relative humidity with a 14-h light/10-h dark photoperiod. Hibiscus (*Hibiscus moscheutos*, Malvaceae) and tobacco (*Nicotiana tabacum*, Solanaceae) were grown from seeds. Lantana (*Lantana camara*, Verbenaceae) was propagated from plant cuttings in pots using 75:25 (vol/vol) mix of potting soil and vermiculite. Plants were watered twice a week. Fully developed leaves (younger than 2-month-old plants) were used to perform phenotypic and physiological measures on whiteflies.

Collection of whiteflies for phenotypic and physiological measures on different plants. We explored the phenotypic and metabolic responses of *B. tabaci* and its symbionts to different host plants by performing transfers from the rearing plant hibiscus to lantana, tobacco, or hibiscus itself (experimental design shown in Fig. S1A in the supplemental material). Synchronized whitefly females were obtained by allowing adults from the hibiscus stock cages (F_0 generation) to mate and oviposit for 7 days on either hibiscus, lantana, or tobacco leaf disks fixed on their adaxial face on a 1-cm layer of 2% agar (Sigma-Aldrich) in petri dishes (90 mm) stored under the same conditions as the stock cages. This procedure was repeated three times per plant and per whitefly line, accounted as "batches" in the following statistical analyses. Petri dishes were monitored every day; after the first emergence, all adults were removed, and 5 h later, newly emerged adults were collected (F_1 generation). The sex of the emerged individuals was determined based on their genitalia by observation under a stereomicroscope (Leica EZ4; Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany). As newly emerged adults do not immediately reproduce, this procedure ensured female virginity, which was confirmed by the absence of females in the offspring (*B. tabaci* is a haplodiploid species; only fertilized eggs engender females). Newly emerged females were isolated on new leaf disks of the same plant species they developed on. Young females (0 to 7 days) were collected and stored at -80°C for subsequent HPLC analyses. Others were left to oviposit for 7 days. After 7 days, the number of oviposited eggs of F_1 females was recorded under a stereomicroscope, and individuals were stored at -80°C for the determination of symbiont density. Ten days after the female removal, the number of larvae was counted to estimate the hatching rate (number of larvae/number of oviposited eggs). Females that had not laid eggs were discarded, and 14 to 27 valid measures of fecundity and hatching rate per condition were obtained.

We also tested whether the insect development on one of the three plants tested here had an impact on female fecundity. Briefly, F_0 adults regularly reared on hibiscus were allowed to lay eggs on hibiscus, lantana, or tobacco (donor host plant). Upon emergence, F_1 virgin females were transferred on the same plant they develop on or on one of the two others (recipient plants). All donor and recipient host plant combinations were tested (experimental design shown in Fig. S2A).

Collection of F_1 hybrids for phenotypic and physiological measures on lantana. We performed all possible crosses between the three lines, AA(Q1-HW), BB(Q1-HR), and CC(Q2-ARW) (Table 2). Virgin females and males from the parental lines reared on hibiscus were collected from leaf disks. Crosses were done on lantana (90-mm petri dish) by bringing together groups of 15 females and 15 males, and mated females were left for 1 week on the same lantana leaf disk to oviposit. Each cross was performed in three replicates, accounted as batches in the following statistical analyses. Upon emergence, F_1 virgin females were isolated on fresh lantana leaf disks (55-mm petri dish) for measures of fecundity, hatching rate, symbiont density, and free amino acid content by following the same protocol as described above ("Collection of whiteflies for phenotypic and physiological measures on different plants") (experimental design shown in Fig. S1B). For each cross, 8 F_1 females were screened for all *S*-symbionts present in F_0 parents, which ensured that the F_1 females' infection status was the same as their mother.

Free amino acid extraction from plant leaves. Free amino acid contents in hibiscus, lantana, and tobacco were assessed from leaves of controlled age (Table S7). Fresh leaves were cut into pieces, lyophilized, and mechanically crushed (TissueLyser; Qiagen, Hilden, Germany) using stainless steel balls

TABLE 3 qPCR primers used in this study

Organism	Gene	Primer	Primer sequence	Fragment size (bp)	Hybridization temp (°C)	Reference
<i>Bemisia tabaci</i>	β -actin	wf-Bactin-F	5'-TCTTCAGCCATCCTTCTTG-3'	130	63	88
		wf-Bactin-R	5'-CGGTGATTCCTCTGCATT-3'	130	63	88
"Ca. Portiera"	16S	Port73-F	5'-GTGGGAATAACGTACGG-3'	193	60	89
		Port266-R	5'-CTCAGTCCCAGTGTGGCTG-3'	193	60	89
<i>Rickettsia</i>	GltA	glt375-F	5'-TGGTATTGCATCGCTTTGGG-3'	199	60	89
		glt574-R	5'-TTTCTTAAGCACTGCAGCAGC-3'	199	60	89
<i>Wolbachia</i>	FtsZ	F2	5'-TTGCAGAGCTTGGACTTGAA-3'	400	55	90
		R2	5'-CATATCTCCGCCACAGTAA-3'	400	55	90
<i>Hamiltonella</i>	dnaK	dnaK-F	5'-GGTTCAGAAAAAGTGGCAG-3'	155	60	91
		dnaK-R	5'-CGAGCGAAAGAGGAGTGAC-3'	155	60	91
<i>Arsenophonus</i>	16S	ArsF3	5'-GTCGTGAGGAARGTTARGGTT-3'	765	63	92
		ArsR3	5'-CCTYTATCTCTAAAGMTCGCTGGATG-3'	765	63	92

(1.4 mm) for 1 min at 20 Hz. Then, 4 mg of tissues were suspended in 20 μ l of ultrapure water with a known amount of norvaline (10 nmol) used as an internal standard. Free amino acids were extracted from 200 μ l of this crude homogenate with trichloroacetic acid (TCA; 5% [wt/vol] final concentration), maintained at room temperature for 2 h, vortexed every 30 min, and then centrifuged (10,000 \times g for 10 min at 4°C). TCA was eliminated from the supernatant by chloroform/water partition (three successive extractions with 400 μ l of chloroform), and the final aqueous supernatant was dried under vacuum. Samples were stored at -20°C and then mixed with 100 μ l of ultrapure water for amino acid analysis. Five biological replicates, consisting of leaves from different plants, were performed for each host plant species.

Whitefly free amino acid extraction. Free amino acids in whiteflies were extracted from single individual insects adapting a protocol initially developed for detection in aphid embryos (82). An absolute analysis of amino acid content, as the one obtained from plant leaves, was impossible, as we were not able to weigh living individuals, even with a precision balance, because of their very low weight (around 30 μ g) and their constant movements. Samples were mechanically crushed (TissueLyser; Qiagen) with stainless steel balls (1.4 mm) for 1 min at 20 Hz in 100 μ l of ultrapure water with a known quantity of norvaline (1 nmol) used as the internal standard. Free amino acids were extracted from 75 μ l of this crude homogenate with 300 μ l of ethanol (EtOH; 80% [wt/vol] final concentration), maintained at room temperature for 2 h, vortexed every 30 min, and then centrifuged (10,000 \times g for 10 min at 4°C), and the supernatant was dried under vacuum. Samples were stored at -20°C and then mixed with 5 μ l of ultrapure water for amino acid analysis. Four biological replicates were performed for each condition.

Amino acid HPLC analysis. Amino acid quantification was performed using HPLC (Agilent 1100; Agilent Technologies) with a guard cartridge and a reverse-phase C_{18} column (Zorbax Eclipse AAA; 3.5 μ m, 150 by 4.6 mm; Agilent Technologies), according to the procedure specifically developed for this system (83) and subsequently adapted to aphid tissues (82). The derivatization process, at room temperature, was automated using the Agilent 1313A autosampler. Detection was performed by a fluorescence detector set at 340 and 450 nm of excitation and emission wavelengths, respectively (266/305 nm for proline). Under these conditions, oxidations can lead to several cysteine forms, which does not allow its accurate detection and quantification, so only 19 amino acids were quantified. For this quantification, norvaline was used as the internal standard, and the response factor of each amino acid was determined using a 250- μ M standard mix of amino acids. The software used for the analysis was ChemStation for LC three-dimensional systems.

Symbiont quantification. Symbiont density was measured on single insects using qPCR. Briefly, DNA was extracted from each individual using the NucleoSpin 96 tissue kit (Macherey-Nagel GmbH, Düren, Germany). Samples were crushed with sterile stainless steel balls (1.4 mm) in 60 μ l of lysis buffer added with 8 μ l of proteinase K (22 mg/ml) by a TissueLyser (Qiagen). DNA was extracted following the instructions from the manufacturer, eluted in 100 μ l of buffer, and stored at -20°C until use. Each qPCR consisted of 5 μ l SYBR Green 2 \times mastermix (Bio-Rad, Hercules, USA), 2 μ l nuclease-free water, 2 μ l DNA sample, and 0.5 μ l of forward and reverse primer (500 nM final concentration). The following genes, 16S rRNA for *Arsenophonus*, dnaK for *Hamiltonella*, gltA for *Rickettsia*, ftsZ for *Wolbachia*, and β -actin for *B. tabaci*, were used for data normalization (Table 3). Quantifications included eight biological replicates with two technical replicates for each sample. Samples were run on a CFX-96 real-time PCR machine and analyses were done using the CFX Manager software v3.1 (Bio-Rad, Hercules, USA). The relative amount of each symbiont was normalized using β -actin (normalized relative quantity [NRQ]). For each gene, two samples were used as calibrators to check for interplate variability. Interplate calibration was performed when interplate variability between calibrators was higher than 0.5 quantification cycle (C_q), which was the case for *Arsenophonus* 16S rRNA.

Statistical analyses. Data analysis was performed using R software (R Development Core Team; <http://www.R-project.org>). When necessary, the normality of the residual error and the homogeneity of the variance were checked to ensure that the modeling approach was appropriate. HPLC data (free amino acid amount in nmol \cdot mg $^{-1}$ for the plant leaves and free amino acid proportions (mol%) in insects) were analyzed using analysis of variance (ANOVA) for each amino acid. Amino acid proportions in insects were analyzed using proportions as continuous variables without transformation. Phenotypic measures (fecundity and hatching rate) were analyzed by a mixed generalized linear model (GLMM) (with a log link and a negative binomial or a binomial error structure, respectively). For the phenotypic

measures on the three host plants, the plant species and the insect line were set as fixed effects. For the phenotypic measures of F_1 hybrids on lantana, the fixed effects included the insect cytotype and its genotype; the latter was integrated into the model as a fixed nested effect within the cytotype. For both experiments, experimental batches were set as a random effect. Symbiont NRQs were calculated using the EasyqpcR package (84) based on the method proposed by Hellemans and collaborators (85) and analyzed by a linear model (LM) applied to log-transformed data. Multiple comparison analyses were performed by Tukey's test (86) to investigate differences between groups using the emmeans function of the emmeans package (87).

Data availability. All data sets generated and analyzed in the present study are available in Zenodo at <https://zenodo.org/record/5520874#.YWsOJhrMJPY>.

SUPPLEMENTAL MATERIAL

Supplemental material is available online only.

FIG S1, EPS file, 0.5 MB.

FIG S2, EPS file, 0.6 MB.

TABLE S1, DOCX file, 0.02 MB.

TABLE S2, DOCX file, 0.02 MB.

TABLE S3, DOCX file, 0.01 MB.

TABLE S4, DOCX file, 0.02 MB.

TABLE S5, DOCX file, 0.02 MB.

TABLE S6, DOCX file, 0.01 MB.

TABLE S7, DOCX file, 0.01 MB.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE); INSA (Institut National des Sciences Appliquées), Lyon; the Scientific Breakthrough Project Micro-be-have (Microbial impact on insect behavior) of Université de Lyon, within the program Investissements d'Avenir (ANR-11-IDEX-0007; ANR-16-IDEX-0005), which also awarded S.B. a Ph.D. fellowship; and the French National Research Agency program grant ANR-16-CEA02-0014 HMicMac (host-microbiota coadaptations, mechanisms, and consequences). The funders had no role in study design, data collection, analysis and interpretation, decision to submit the work for publication, or preparation of the manuscript.

REFERENCES

- Frago E, Dicke M, Godfray HCJ. 2012. Insect symbionts as hidden players in insect-plant interactions. *Trends Ecol Evol* 27:705–711. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.08.013>.
- Hansen AK, Moran NA. 2014. The impact of microbial symbionts on host plant utilization by herbivorous insects. *Mol Ecol* 23:1473–1496. <https://doi.org/10.1111/mec.12421>.
- Baumann P. 2005. Biology of bacteriocyte-associated endosymbionts of plant sap-sucking insects. *Annu Rev Microbiol* 59:155–189. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.59.030804.121041>.
- Douglas AE. 2009. The microbial dimension in insect nutritional ecology. *Funct Ecol* 23:38–47. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01442.x>.
- Buchner P. 1965. Endosymbioses of animals with plant microorganisms. John Wiley & Sons, Inc, New York, NY.
- Gottlieb Y, Ghanim M, Gueguen G, Kontsedalov S, Vavre F, Fleury F, Zchori-Fein E. 2008. Inherited intracellular ecosystem: symbiotic bacteria share bacteriocytes in whiteflies. *FASEB J* 22:2591–2599. <https://doi.org/10.1096/fj.07-101162>.
- Matsuura Y, Kikuchi Y, Hosokawa T, Koga R, Meng XY, Kamagata Y, Nikoh N, Fukatsu T. 2012. Evolution of symbiotic organs and endosymbionts in lygaeid stinkbugs. *ISME J* 6:397–409. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.103>.
- Koga R, Nikoh N, Matsuura Y, Meng XY, Fukatsu T. 2013. Mealybugs with distinct endosymbiotic systems living on the same host plant. *FEMS Microbiol Ecol* 83:93–100. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01450.x>.
- Hurst GDD, Frost CL. 2015. Reproductive parasitism: maternally inherited symbionts in a biparental world. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7:a017699-21. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a017699>.
- Oliver KM, Degnan PH, Burke GR, Moran NA. 2010. Facultative symbionts in aphids and the horizontal transfer of ecologically important traits. *Annu Rev Entomol* 55:247–266. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-112408-085305>.
- Feldhaar H. 2011. Bacterial symbionts as mediators of ecologically important traits of insect hosts. *Ecol Entomol* 36:533–543. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2011.01318.x>.
- Oliver KM, Russell JA, Moran NA, Hunter MS. 2003. Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:1803–1807. <https://doi.org/10.1073/pnas.0335320100>.
- Russell JA, Moran NA. 2006. Costs and benefits of symbiont infection in aphids: variation among symbionts and across temperatures. *Proc Biol Sci* 273:603–610. <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3348>.
- Moran NA, McCutcheon JP, Nakabachi A. 2008. Genomics and evolution of heritable bacterial symbionts. *Annu Rev Genet* 42:165–190. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.41.110306.130119>.
- Caspi-Fluger A, Inbar M, Mozes-Daube N, Katzir N, Portnoy V, Belausov E, Hunter MS, Zchori-Fein E. 2012. Horizontal transmission of the insect symbiont *Rickettsia* is plant-mediated. *Proc Biol Sci* 279:1791–1796. <https://doi.org/10.1098/rspb.2011.2095>.
- Li S, Ahmed MZ, Lv N, Shi P, Wang X, Huang J-L, Qiu B-L. 2017. Plant-mediated horizontal transmission of *Walbachia* between whiteflies. *ISME J* 11:1019–1028. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.164>.
- Henry LM, Peccoud J, Simon JC, Hadfield JD, Maiden MJ, Ferrari J, Godfray HCJ. 2013. Horizontally transmitted symbionts and host colonization of ecological niches. *Curr Biol* 23:1713–1717. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.07.029>.
- Jaenike J. 2012. Population genetics of beneficial heritable symbionts. *Trends Ecol Evol* 27:227–233. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.10.005>.
- Moran NA. 1996. Accelerated evolution and Muller's ratchet in endosymbiotic bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:2873–2878. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.7.2873>.

20. Rispé C, Moran NA. 2000. Accumulation of deleterious mutations in endosymbionts: Muller's ratchet with two levels of selection. *Am Nat* 156: 425–441. <https://doi.org/10.2307/3079175>.
21. Mccutcheon JP, Moran NA. 2011. Extreme genome reduction in symbiotic bacteria. *Nat Rev Microbiol* 10:13–26. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2670>.
22. Bennett GM, Moran NA. 2015. Heritable symbiosis: the advantages and perils of an evolutionary rabbit hole. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112: 10169–10176. <https://doi.org/10.1073/pnas.1421388112>.
23. Lamelas A, Gosalbes MJ, Manzano-Marin A, Peretó J, Moya A, Latorre A. 2011. *Serratia symbiotica* from the aphid *Cinara cedri*: a missing link from facultative to obligate insect endosymbiont. *PLoS Genet* 7:e1002357. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002357>.
24. Leonardo TE. 2004. Removal of a specialization-associated symbiont does not affect aphid fitness. *Ecol Lett* 7:461–468. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00602.x>.
25. Ferrari J, Scarborough CL, Godfray HCJ. 2007. Genetic variation in the effect of a facultative symbiont on host-plant use by pea aphids. *Oecologia* 153:323–329. <https://doi.org/10.1007/s00442-007-0730-2>.
26. McLean AHC, Van Asch M, Ferrari J, Godfray HCJ. 2011. Effects of bacterial secondary symbionts on host plant use in pea aphids. *Proc Biol Sci* 278: 760–766. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.1654>.
27. Tsuchida T, Koga R, Shibao H, Matsumoto T, Fukatsu T. 2002. Diversity and geographic distribution of secondary endosymbiotic bacteria in natural populations of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Mol Ecol* 11: 2123–2135. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2002.01606.x>.
28. Tsuchida T, Koga R, Fukatsu T. 2004. Host plant specialization governed by facultative symbiont. *Science* (80-) 303:1989–1989. <https://doi.org/10.1126/science.1094611>.
29. Leonardo TE, Muir GT. 2003. Facultative symbionts are associated with host plant specialization in pea aphid populations. *Proc R Soc London Ser B Biol Sci* 270:5209–5212. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0064>.
30. Henry LM, Maiden MCJ, Ferrari J, Godfray HCJ. 2015. Insect life history and the evolution of bacterial mutualism. *Ecol Lett* 18:516–525. <https://doi.org/10.1111/ele.12425>.
31. Wagner SM, Martinez AJ, Ruan YM, Kim KL, Lenhart PA, Dehnel AC, Oliver KM, White JA. 2015. Facultative endosymbionts mediate dietary breadth in a polyphagous herbivore. *Funct Ecol* 29:1402–1410. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12459>.
32. Dinsdale AB, Cook LG, Riginos C, Buckley YM, De Barro PJ. 2010. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. *Ann Entomol Soc Am* 103:196–208. <https://doi.org/10.1603/AN09061>.
33. De Barro PJ, Liu S-S, Boykin LM, Dinsdale AB. 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annu Rev Entomol* 56:1–19. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-112408-085504>.
34. Firdaus S, Vosman B, Hidayati N, Jaya Supena ED, Supena J, Visser RGF, van Heusden AW. 2013. The *Bemisia tabaci* species complex: additions from different parts of the world. *Insect Sci* 20:723–733. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12001>.
35. Roopa HK, Asokan R, Rebijith KB, Hande RH, Mahmood R, Kumar NKK. 2015. Prevalence of a new genetic group, MEAM-K, of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Karnataka, India, as evident from mtCOI sequences. *Florida Entomol* 98:1062–1071. <https://doi.org/10.1653/024.098.0409>.
36. Hu J, Zhang X, Jiang Z, Zhang F, Liu Y, Li Z, Zhang Z. 2018. New putative cryptic species detection and genetic network analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in China based on mitochondrial COI sequences. *Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal* 29:474–484. <https://doi.org/10.1080/24701394.2017.1307974>.
37. Thao ML, Baumann P. 2004. Evolutionary relationships of primary prokaryotic endosymbionts of whiteflies and their hosts. *Appl Environ Microbiol* 70:3401–3406. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.6.3401-3406.2004>.
38. Santos-García D, Farnier PA, Beitia F, Zchori-Fein E, Vavre F, Mouton L, Moya A, Latorre A, Silva FJ. 2012. Complete genome sequence of “*Candidatus Portiera aleyrodidarum*” BT-QVLC, an obligate symbiont that supplies amino acids and carotenoids to *Bemisia tabaci*. *J Bacteriol* 194: 6654–6655. <https://doi.org/10.1128/JB.01793-12>.
39. Zchori-Fein E, Lahav T, Freilich S. 2014. Variations in the identity and complexity of endosymbiont combinations in whitefly hosts. *Front Microbiol* 5:1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00310>.
40. Gueguen G, Vavre F, Gnankine O, Peterschmitt M, Charif D, Chiel E, Gottlieb Y, Ghanim M, Zchori-Fein E, Fleury F. 2010. Endosymbiont meta-communities, mtDNA diversity and the evolution of the *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) species complex. *Mol Ecol* 19:4365–4378. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04775.x>.
41. Gnankiné O, Mouton L, Henri H, Terraz G, Houndeté T, Martin T, Vavre F, Fleury F. 2013. Distribution of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) biotypes and their associated symbiotic bacteria on host plants in West Africa. *Insect Conserv Divers* 6:411–421. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4598.2012.00206.x>.
42. Malka O, Santos-García D, Feldmesser E, Sharon E, Krause-Sakate R, Delatte H, van Brunschot S, Patel M, Visendi P, Mugerwa H, Seal S, Colvin J, Morin S. 2018. Species-complex diversification and host-plant associations in *Bemisia tabaci*: a plant-defence, detoxification perspective revealed by RNA-Seq analyses. *Mol Ecol* 27:4241–4256. <https://doi.org/10.1111/mec.14865>.
43. Vyskočilová S, Seal S, Colvin J. 2019. Relative polyphagy of “Mediterranean” cryptic *Bemisia tabaci* whitefly species and global pest status implications. *J Pest Sci* 92:1071–1088. <https://doi.org/10.1007/s10340-019-01113-9>.
44. Rao Q, Rollat-Farnier P-A, Zhu D-T, Santos-García D, Silva FJ, Moya A, Latorre A, Klein CC, Vavre F, Sagot M-F, Liu S-S, Mouton L, Wang X-W. 2015. Genome reduction and potential metabolic complementation of the dual endosymbionts in the whitefly *Bemisia tabaci*. *BMC Genomics* 16:226–238. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1379-6>.
45. Luan J-B, Chen W, Hasegawa DK, Simmons AM, Wintermantel WM, Ling KS, Fei Z, Liu SS, Douglas AE. 2015. Metabolic coevolution in the bacterial symbiosis of whiteflies and related plant sap-feeding insects. *Genome Biol Evol* 7:2635–2647. <https://doi.org/10.1093/gbe/evw170>.
46. Santos-García D, Juravel K, Freilich S, Zchori-Fein E, Latorre A, Moya A, Morin S, Silva FJ. 2018. To B or not to B: comparative genomics suggests *Arsenophonus* as a source of B vitamins in whiteflies. *Front Microbiol* 9: 2254. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02254>.
47. Wang Y-B, Ren F-R, Yao Y-L, Sun X, Walling LL, Li N-N, Bai B, Bao X-Y, Xu X-R, Luan J-B. 2020. Intracellular symbionts drive sex ratio in the whitefly by facilitating fertilization and provisioning of B vitamins. *ISME J* 14:2923–2935. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-0717-0>.
48. Ren FR, Sun X, Wang TY, Yao YL, Huang YZ, Zhang X, Luan JB. 2020. Biotin provisioning by horizontally transferred genes from bacteria confers animal fitness benefits. *ISME J* 14:2542–2553. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-0704-5>.
49. Douglas AE. 2014. Molecular dissection of nutrient exchange at the insect-microbial interface. *Curr Opin Insect Sci* 4:23–28. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2014.08.007>.
50. Zytynska S, Tighiouart K, Frago E. 2021. Benefits and costs of hosting facultative symbionts in plant-sucking insects: a meta-analysis. *Mol Ecol* 30: 2483–2494. <https://doi.org/10.1111/mec.15897>.
51. Weibull J. 1987. Seasonal changes in the free amino acids of oat and barley phloem sap in relation to plant growth stage and growth of *Rhopalosiphum padi*. *Ann Applied Biology* 111:729–737. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1987.tb02031.x>.
52. Weibull J, Ronquist F, Brishammar S. 1990. Free amino acid composition of leaf exudates and phloem sap: a comparative study in oats and barley. *Plant Physiol* 92:222–226. <https://doi.org/10.1104/pp.92.1.222>.
53. Douglas AE. 1993. The nutritional quality of phloem sap utilized by natural aphid populations. *Ecol Entomol* 18:31–38. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1993.tb01076.x>.
54. Sandström J, Pettersson J. 1994. Amino acid composition of phloem sap and the relation to intraspecific variation in pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) performance. *J Insect Physiol* 40:947–955. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(94\)90133-3](https://doi.org/10.1016/0022-1910(94)90133-3).
55. Upadhyay SK, Sharma S, Singh H, Dixit S, Kumar J, Verma PC, Chandrashekar K. 2015. Whitefly genome expression reveals host-symbiont interaction in amino acid biosynthesis. *PLoS One* 10:e0126751-16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126751>.
56. Noguchi M, Tamaki E. 1962. Studies on nitrogen metabolism in tobacco plants. A. Part II. Diurnal variation in the amino acid composition of tobacco leaves. *Arch Biochem Biophys* 98:197–205. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(62\)90173-X](https://doi.org/10.1016/0003-9861(62)90173-X).
57. Romba R, Gnankiné O. 2018. Comparative biology parameters of Q1 and Q3 genotypes of *Bemisia tabaci* MED (Hemiptera: Aleyrodidae) on two host plants in Burkina Faso, West Africa. *African Entomol* 26:116–123. <https://doi.org/10.4001/003.026.0116>.
58. Romba R, Gnankine O, Drabo SF, Tiendrebeogo F, Henri H, Mouton L, Vavre F. 2018. Abundance of *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) and its parasitoids on vegetables and cassava plants in Burkina Faso (West Africa). *Ecol Evol* 8:6091–6103. <https://doi.org/10.1002/ece3.4078>.
59. Saleh D, Laarif A, Clouet C, Gauthier N. 2012. Spatial and host-plant partitioning between coexisting *Bemisia tabaci* cryptic species in Tunisia. *Popul Ecol* 54:261–274. <https://doi.org/10.1007/s10144-012-0303-z>.

60. Thompson WMO. 2006. Influence of amino acids on cassava biotype *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) when feeding on an artificial system. *J Entomology* 3:198–203. <https://doi.org/10.3923/jee.2006.198.203>.
61. Stout MJ, Thaler JS, Thomma BPHJ. 2006. Plant-mediated interactions between pathogenic microorganisms and herbivorous arthropods. *Annu Rev Entomol* 51:663–689. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151117>.
62. Pan H, Su Q, Jiao X, Zhou L, Liu B, Xie W, Wang S, Wu Q, Xu B, Zhang Y. 2013. Relative amount of symbionts in *Bemisia tabaci* (Gennadius) Q changes with host plant and establishing the method of analyzing free amino acid in *B. tabaci*. *Commun Integr Biol* 6:e23397. <https://doi.org/10.4161/cib.23397>.
63. Guo L, Su Q, Yin J, Yang Z, Xie W, Wang S, Wu Q, Cui H, Zhang Y. 2019. Amino acid utilization may explain why *Bemisia tabaci* Q and B differ in their performance on plants infected by the tomato yellow leaf curl virus. *Front Physiol* 10:1–8.
64. Crafts-Brandner SJ. 2002. Plant nitrogen status rapidly alters amino acid metabolism and excretion in *Bemisia tabaci*. *J Insect Physiol* 48:33–41. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(01\)00140-8](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(01)00140-8).
65. Liu Y-H, Sha MMR, Song Y, Liu T-X. 2020. Host plant affects symbiont abundance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Insects* 11: 501–517. <https://doi.org/10.3390/insects11080501>.
66. Liu B, Yan F, Chu D, Pan H, Jiao X, Xie W, Wu Q, Wang S, Xu B, Zhou X, Zhang Y. 2012. Difference in feeding behaviors of two invasive whiteflies on host plants with different suitability: implication for competitive displacement. *Int J Biol Sci* 8:697–706. <https://doi.org/10.7150/ijbs.4108>.
67. Iida H, Kitamura T, Honda K. 2009. Comparison of egg-hatching rate, survival rate and development time of the immature stage between B- and Q-biotypes of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) on various agricultural crops. *Appl Entomol Zool* 44:267–273. <https://doi.org/10.1303/aez.2009.267>.
68. Jiao X, Xie W, Wang S, Wu Q, Pan H, Liu B, Zhang Y. 2013. Differences in host selection and performance between B and Q putative species of *Bemisia tabaci* on three host plants. *Entomol Exp Appl* 147:1–8. <https://doi.org/10.1111/eea.12040>.
69. Price DRG, Feng H, Baker JD, Bavan S, Luetje CW, Wilson ACC. 2014. Aphid amino acid transporter regulates glutamine supply to intracellular bacterial symbionts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:320–325. <https://doi.org/10.1073/pnas.1306068111>.
70. Liadouze I, Febvay G, Guillaud J, Bonnot G. 1995. Effect of diet on the free amino acid pools of symbiotic and aposymbiotic pea aphids, *Acyrtosiphon pisum*. *J Insect Physiol* 41:33–40. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(94\)00085-U](https://doi.org/10.1016/0022-1910(94)00085-U).
71. Opatovský I, Santos-García D, Ruan Z, Lahav T, Ofaim S, Mouton L, Barbe V, Jiang J, Zchori-Fein E, Freilich S. 2018. Modeling trophic dependencies and exchanges among insects' bacterial symbionts in a host-simulated environment. *BMC Genomics* 19:402–416. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4786-7>.
72. Vyskočilová S, Tay WT, van Brunschot S, Seal S, Colvin J. 2018. An integrative approach to discovering cryptic species within the *Bemisia tabaci* whitefly species complex. *Sci Rep* 8:1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29305-w>.
73. Zhu D, Zou C, Ban F, Wang H, Wang X, Liu Y-Q. 2019. Conservation of transcriptional elements in the obligate symbiont of the whitefly *Bemisia tabaci*. *PeerJ* 7:e7477. <https://doi.org/10.7717/peerj.7477>.
74. Zhu D, Rao Q, Zou C, Ban F-X, Zhao J-J, Liu S. 2021. Genomic and transcriptomic analyses reveal metabolic complementarity between whiteflies and their symbionts. *Insect Sci* 1–27. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12943>.
75. Santos-García D, Mestre-Rincon N, Ouvrard D, Zchori-Fein E, Morin S. 2020. *Portiera* gets wild: genome instability provides insights into the evolution of both whiteflies and their endosymbionts. *Genome Biol Evol* 12:2107–2124. <https://doi.org/10.1093/gbe/evaa216>.
76. English S, Pen I, Shea N, Uller T. 2015. The information value of non-genetic inheritance in plants and animals. *PLoS One* 10:e0116996-17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116996>.
77. Himler AG, Adachi-Hagimori T, Bergen JE, Kozuch A, Kelly SE, Tabashnik BE, Chiel E, Duckworth VE, Dennehy TJ, Zchori-Fein E, Hunter MS. 2011. Rapid spread of a bacterial symbiont in an invasive whitefly is driven by fitness benefits and female bias. *Science* 332:254–256. <https://doi.org/10.1126/science.1199410>.
78. Cass BN, Yallouz R, Bondy EC, Mozes-Daube N, Horowitz AR, Kelly SE, Zchori-Fein E, Hunter MS. 2015. Dynamics of the endosymbiont *Rickettsia* in an insect pest. *Microb Ecol* 70:287–297. <https://doi.org/10.1007/s00248-015-0565-z>.
79. Bockoven AA, Bondy EC, Flores MJ, Kelly SE, Ravenscraft AM, Hunter MS. 2020. What goes up might come down: the spectacular spread of an endosymbiont is followed by its decline a decade later. *Microb Ecol* 79: 482–494. <https://doi.org/10.1007/s00248-019-01417-4>.
80. Hunter MS, Asiimwe P, Himler AG, Kelly SE. 2017. Host nuclear genotype influences phenotype of a conditional mutualist symbiont. *J Evol Biol* 30: 141–149. <https://doi.org/10.1111/jeb.12993>.
81. Henri H, Terraz G, Gnankiné O, Fleury F, Mouton L. 2013. Molecular characterization of genetic diversity within the Africa/Middle East/Asia Minor and Sub-Saharan African groups of the *Bemisia tabaci* species complex. *Int J Pest Manag* 59:329–338. <https://doi.org/10.1080/09670874.2013.869374>.
82. Rabatel A, Febvay G, Gaget K, Duport G, Baa-Puyoulet P, Sapountzis P, Bendridi N, Rey M, Rahbé Y, Charles H, Calevro F, Colella S. 2013. Tyrosine pathway regulation is host-mediated in the pea aphid symbiosis during late embryonic and early larval development. *BMC Genomics* 14:235–217. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-235>.
83. Henderson JW, Ricker RD, Bidlingmeyer BA, Woodward C. 2000. Rapid, accurate, sensitive, and reproducible HPLC analysis of amino acids and the Agilent 1100 HPLC. amino acid analysis using Zorbax Eclipse-AAA columns and the Agilent 1100 HPLC. Publication no. 59800-1193E. Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA.
84. Le Pape S. 2012. EasyqpcR: EasyqpcR for easy analysis of real-time PCR data at IRTOMIT-INSERM U1082. <http://irtomit.labo.univ-poitiers.fr/>, <http://bioconductor.riken.jp/packages/stats/bioc/EasyqpcR/>. Accessed January 2021.
85. Hellemans J, Mortier G, De Paep A, Speleman F, Vandesompele J. 2007. qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data. *Genome Biol* 8:R19. <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-2-r19>.
86. Tukey JW. 1949. Comparing individual means in the analysis of variance. *Int Biometric Soc* 5:99–114. <https://doi.org/10.2307/3001913>.
87. Russell L. 2020. emmeans: estimated marginal means, aka least-squares means. R package version 1.4.8. <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>. Accessed 15 January 2021.
88. Sinisterra XH, McKenzie CL, Hunter WB, Powell CA, Shatters RG. 2005. Differential transcriptional activity of plant-pathogenic begomoviruses in their whitefly vector (*Bemisia tabaci*, Gennadius: Hemiptera Aleyrodidae). *J Gen Virol* 86:1525–1532. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80665-0>.
89. Caspi-Fluger A, Inbar M, Mozes-Daube N, Mouton L, Hunter MS, Zchori-Fein E. 2011. *Rickettsia* “in” and “out”: two different localization patterns of a bacterial symbiont in the same insect species. *PLoS One* 6:e21096-9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021096>.
90. Vavre F, Fleury F, Lepetit D, Fouillet P, Boulétreau M. 1999. Phylogenetic evidence for horizontal transmission of *Wolbachia* in host-parasitoid associations. *Mol Biol Evol* 16:1711–1723. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026084>.
91. Moran NA, Degnan PH, Santos SR, Dunbar HE, Ochman H. 2005. The players in a mutualistic symbiosis: insects, bacteria, viruses, and virulence genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:16919–16926. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507029102>.
92. Duron O, Bouchon D, Boutin S, Bellamy L, Zhou L, Engelstädter J, Hurst GD. 2008. The diversity of reproductive parasites among arthropods: *Wolbachia* do not walk alone. *BMC Biol* 6:1–12. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-6-27>.

Supplemental material

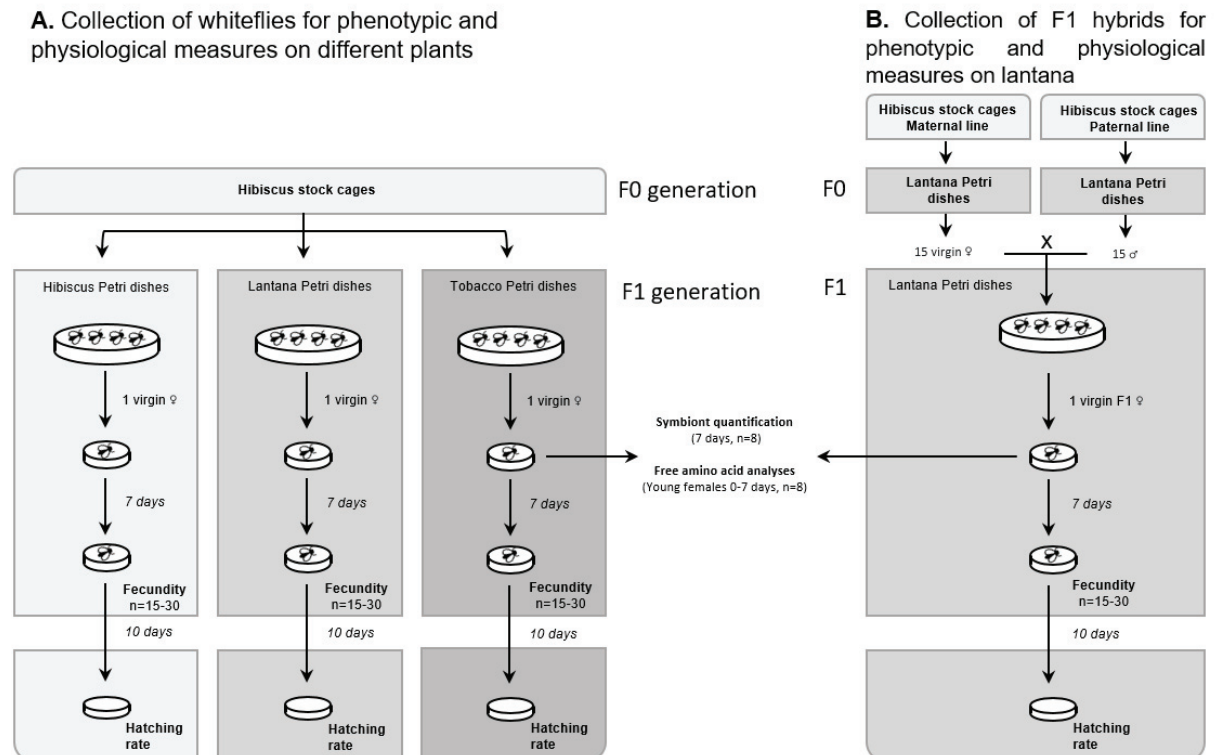


Figure S1. Experimental design used for phenotypic and physiological measures on hibiscus, lantana and tobacco in ‘Collection of whiteflies for phenotypic and physiological measures on different plants’ experiment (A) and ‘Collection of F1 hybrids for phenotypic and physiological measures on lantana’ experiment (B). Individual fecundity measures, free amino acid analyses, and symbiont quantification were performed on F1 virgin females. The hatching rate was calculated as the ratio of the number of hatched eggs over the total number of eggs laid per F1 female.

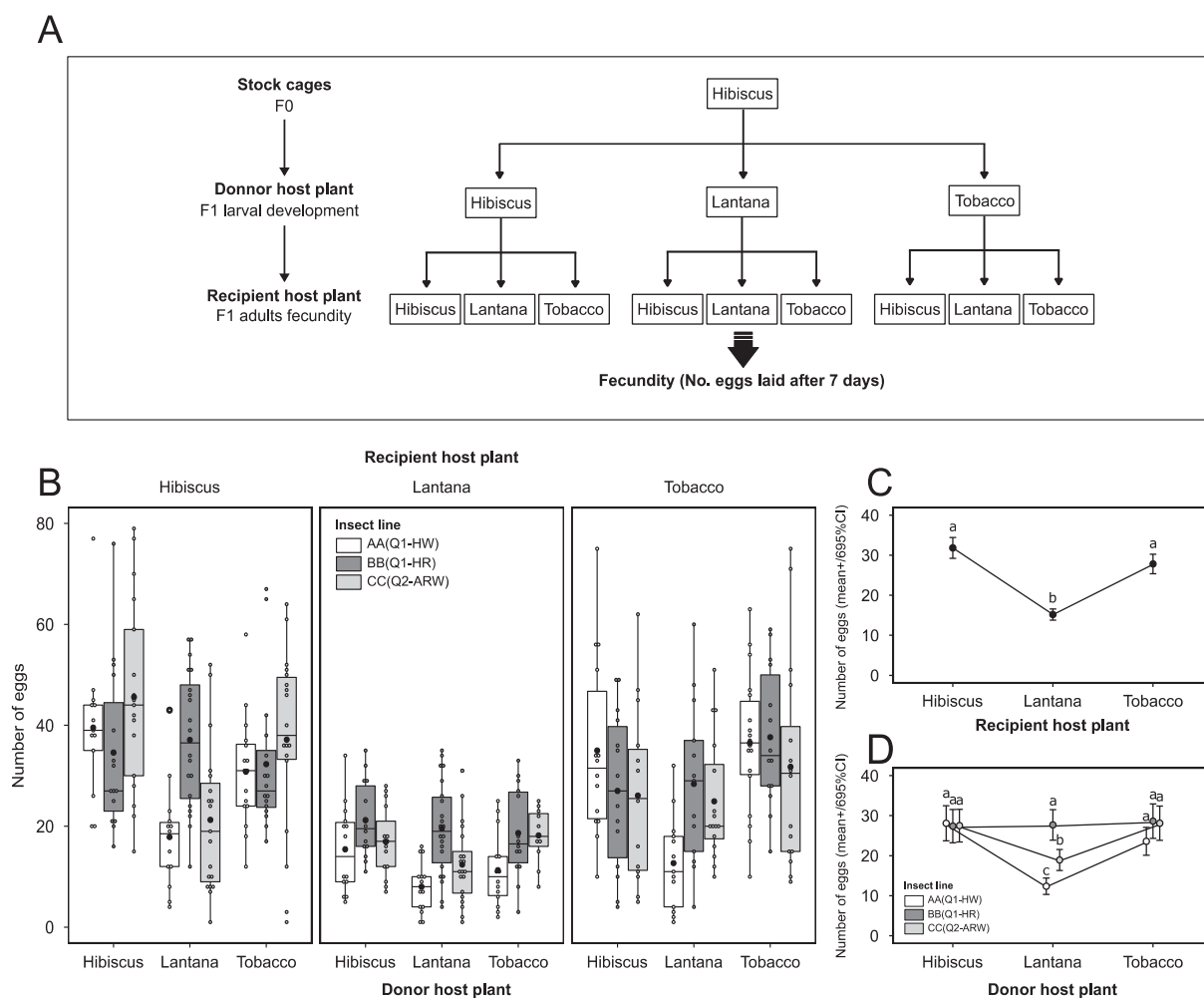


Figure S2. Effect of the plant were females developed or fed on (respectively donor or recipient host plant) on fecundity per *B. tabaci* female from the three lines used here. A: Schematic diagram of the plant switch experiment performed in this study. **B:** Number of eggs laid per female over 7 days. Each dot represents one measure for a given female; box length represents the interquartile range, whiskers indicate the lowest and largest data points, excluding outliers. Black horizontal bars correspond to the median, and black dots correspond to the mean. **C:** Effect of the recipient plant on whiteflies mean fecundity (+/- 95%CI). **D:** Effect of the interaction between the donor plant and insect line on whiteflies mean fecundity (+/- 95%CI). Insect line key: Nuclear genotype (Cytotype); Cytotype: Mitochondrial group+S-symbionts; S-symbionts: A: *Arsenophonus*, H: *Hamiltonella*, R: *Rickettsia*, W: *Wolbachia*. Data were analyzed with a generalized linear model (GLM) (with a negative binomial error structure). In panels B and C, lowercase letters indicate statistical differences among recipient plants (B) or donor plants and insect lines combinations (C) (Tukey's test, $P < 0.005$)

Table S1. Free amino acid profiles of *B. tabaci* females from three lines on hibiscus, lantana and tobacco, determined through HPLC analysis (n=8) (mean mol%, mean \pm SE).

Plant	Hibiscus			Lantana			Tobacco		
	AA(Q1-HW)	BB(Q1-HR)	CC(Q2-ARW)	AA(Q1-HW)	BB(Q1-HR)	CC(Q2-ARW)	AA(Q1-HW)	BB(Q1-HR)	CC(Q2-ARW)
Ala	21.92 \pm 1.38	17.73 \pm 2.50	20.47 \pm 1.06	23.48 \pm 2.44	31.62 \pm 1.01	27.02 \pm 2.10	20.53 \pm 1.72	20.14 \pm 2.76	24.09 \pm 0.71
Arg	9.27 \pm 0.75	9.85 \pm 2.47	7.34 \pm 1.16	5.75 \pm 0.39	6.28 \pm 0.37	5.85 \pm 0.25	7.98 \pm 1.32	5.65 \pm 0.69	6.02 \pm 0.21
Asn	0.57 \pm 0.11	0.91 \pm 0.30	1.30 \pm 0.39	1.45 \pm 0.35	1.20 \pm 0.20	1.18 \pm 0.24	0.71 \pm 0.22	0.71 \pm 0.19	0.93 \pm 0.15
Asp	0.79 \pm 0.13	1.16 \pm 0.24	0.97 \pm 0.19	1.76 \pm 0.37	1.19 \pm 0.22	1.45 \pm 0.36	1.02 \pm 0.18	1.26 \pm 0.38	0.83 \pm 0.18
Gln	22.67 \pm 3.23	21.76 \pm 3.09	21.36 \pm 2.86	12.20 \pm 2.49	6.31 \pm 1.03	6.51 \pm 1.33	16.52 \pm 3.66	19.71 \pm 3.05	18.46 \pm 0.98
Glu	3.24 \pm 0.25	3.51 \pm 0.56	2.76 \pm 0.49	6.43 \pm 0.77	4.91 \pm 0.40	5.55 \pm 0.49	4.71 \pm 0.69	3.18 \pm 0.54	2.48 \pm 0.32
Gly	4.98 \pm 0.52	5.54 \pm 0.61	4.33 \pm 0.46	6.05 \pm 0.61	6.19 \pm 0.51	5.52 \pm 0.59	10.70 \pm 3.91	4.46 \pm 0.54	6.13 \pm 0.46
His	4.16 \pm 0.45	5.27 \pm 0.64	6.12 \pm 0.37	2.70 \pm 0.18	3.86 \pm 0.41	2.64 \pm 0.28	3.66 \pm 0.65	4.49 \pm 0.39	4.70 \pm 0.43
Ile	1.22 \pm 0.12	1.22 \pm 0.13	1.70 \pm 0.19	2.23 \pm 0.20	2.59 \pm 0.19	2.78 \pm 0.15	1.31 \pm 0.24	1.29 \pm 0.17	1.47 \pm 0.11
Leu	1.79 \pm 0.36	2.35 \pm 0.77	1.64 \pm 0.13	4.47 \pm 1.36	3.76 \pm 0.33	5.85 \pm 1.68	3.26 \pm 1.13	1.78 \pm 0.17	2.32 \pm 0.15
Lys	1.72 \pm 0.22	1.72 \pm 0.27	2.01 \pm 0.22	2.49 \pm 0.34	3.28 \pm 0.28	3.23 \pm 0.42	2.23 \pm 0.30	1.77 \pm 0.26	2.73 \pm 0.53
Met	0.56 \pm 0.05	0.57 \pm 0.05	0.73 \pm 0.07	0.96 \pm 0.06	1.27 \pm 0.05	1.37 \pm 0.12	0.91 \pm 0.29	0.71 \pm 0.05	1.01 \pm 0.09
Phe	1.03 \pm 0.10	1.13 \pm 0.11	1.21 \pm 0.11	2.03 \pm 0.11	2.49 \pm 0.21	2.50 \pm 0.14	1.22 \pm 0.15	1.45 \pm 0.17	1.58 \pm 0.05
Pro	14.29 \pm 1.22	11.08 \pm 1.27	12.53 \pm 1.35	8.95 \pm 0.86	8.84 \pm 0.40	8.83 \pm 0.63	8.29 \pm 1.53	10.62 \pm 0.90	10.87 \pm 0.93
Ser	3.63 \pm 0.16	4.14 \pm 0.74	7.18 \pm 2.33	5.51 \pm 0.82	5.73 \pm 0.32	5.90 \pm 0.76	3.13 \pm 0.59	3.62 \pm 0.53	4.83 \pm 0.38
Thr	1.41 \pm 0.14	2.91 \pm 1.28	1.99 \pm 0.57	3.64 \pm 1.30	2.29 \pm 0.15	4.54 \pm 2.08	3.61 \pm 1.07	2.17 \pm 0.67	2.37 \pm 0.36
Trp	0.77 \pm 0.09	0.55 \pm 0.07	0.79 \pm 0.05	0.83 \pm 0.13	0.75 \pm 0.06	0.68 \pm 0.06	0.68 \pm 0.10	0.68 \pm 0.08	0.76 \pm 0.05
Tyr	3.06 \pm 0.44	2.72 \pm 0.49	2.00 \pm 0.26	3.45 \pm 0.45	2.74 \pm 0.15	3.28 \pm 0.40	3.03 \pm 0.62	4.95 \pm 0.94	4.87 \pm 0.33
Val	2.92 \pm 0.32	5.89 \pm 2.68	3.58 \pm 0.17	5.61 \pm 2.06	4.69 \pm 0.23	5.34 \pm 1.06	6.50 \pm 2.46	11.35 \pm 7.24	3.57 \pm 0.21

Ala: Alanine; Arg: Arginine; Asn: Asparagine; Asp: Aspartate; Gln: Glutamine; Glu: Glutamate; Gly: Glycine; His: Histidine; Ile: Isoleucine; Leu: Leucine; Lys: Lysine; Met: Methionine; Phe: Phenylalanine; Pro: Proline; Ser: Serine; Thr: Threonine; Trp: Tryptophan; Tyr: Tyrosine; Val: Valine. Insect line key: Nuclear genotype(Cyotype); Cyotype: Mitochondrial group+S-symbionts; S-symbionts: A: *Arsenophonus*, H: *Hamiltonella*, R: *Rickettsia*, W: *Wolbachia*.

Table S2. Two-way ANOVA analysis of the free amino acid profile of *B. tabaci* females from three lines on hibiscus, lantana, and tobacco, determined through HPLC analysis (summarized on Fig. 3).

Amino Acid	Parameter	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Asp	Plant	2	3.433	1.716	3.067	0.054
	Line	2	0.221	0.111	0.198	0.821
	Plant:Line	4	2.380	0.595	1.063	0.382
Glu	Plant	2	86.655	43.327	19.670	<0.001 ***
	Line	2	18.911	9.455	4.293	0.018 **
	Plant:Line	4	13.425	3.356	1.524	0.206
Asn	Plant	2	3.073	1.537	2.999	0.057
	Line	2	0.733	0.367	0.715	0.493
	Plant:Line	4	2.064	0.516	1.007	0.411
Ser	Plant	2	41.631	20.815	2.886	0.063
	Line	2	46.957	23.478	3.255	0.045 *
	Plant:Line	4	24.788	6.197	0.859	0.493
Gln	Plant	2	2370.048	1185.024	21.898	<0.001 ***
	Line	2	36.139	18.069	0.334	0.717
	Plant:Line	4	191.258	47.814	0.884	0.479
His	Plant	2	54.093	27.047	17.012	<0.001 ***
	Line	2	16.233	8.116	5.105	0.009 **
	Plant:Line	4	11.599	2.900	1.824	0.135
Gly	Plant	2	55.266	27.633	1.762	0.180
	Line	2	56.702	28.351	1.808	0.172
	Plant:Line	4	117.979	29.495	1.881	0.125
Thr	Plant	2	23.198	11.599	1.338	0.270
	Line	2	3.563	1.781	0.205	0.815
	Plant:Line	4	35.698	8.924	1.029	0.399
Arg	Plant	2	109.305	54.652	5.808	0.005 **
	Line	2	20.023	10.012	1.064	0.351
	Plant:Line	4	34.118	8.530	0.906	0.466
Ala	Plant	2	717.290	358.645	12.706	<0.001 ***
	Line	2	43.549	21.774	0.771	0.467
	Plant:Line	4	371.351	92.838	3.289	0.016 *
Tyr	Plant	2	35.563	17.782	8.795	<0.001 ***
	Line	2	1.060	0.530	0.262	0.770
	Plant:Line	4	24.690	6.173	3.053	0.023 *
Val	Plant	2	111.480	55.740	0.881	0.420
	Line	2	127.388	63.694	1.006	0.371
	Plant:Line	4	162.394	40.598	0.641	0.635
Met	Plant	2	4.079	2.040	18.477	<0.001 ***
	Line	2	0.694	0.347	3.142	0.050
	Plant:Line	4	0.546	0.137	1.237	0.304
Trp	Plant	2	0.043	0.022	0.414	0.663
	Line	2	0.132	0.066	1.255	0.292
	Plant:Line	4	0.283	0.071	1.348	0.262
Phe	Plant	2	19.332	9.666	67.007	<0.001 ***
	Line	2	1.511	0.755	5.236	0.008 **
	Plant:Line	4	0.302	0.076	0.524	0.718
Ile	Plant	2	21.750	10.875	46.065	<0.001 ***
	Line	2	1.987	0.994	4.209	0.019 *
	Plant:Line	4	0.621	0.155	0.657	0.624
Leu	Plant	2	103.516	51.758	8.503	<0.001 ***
	Line	2	5.727	2.863	0.470	0.627
	Plant:Line	4	23.576	5.894	0.968	0.431
Lys	Plant	2	17.249	8.625	9.963	<0.001 ***
	Line	2	3.452	1.726	1.994	0.145
	Plant:Line	4	3.834	0.959	1.107	0.361
Pro	Plant	2	180.523	90.261	9.941	<0.001 ***
	Line	2	3.881	1.941	0.214	0.808
	Plant:Line	4	69.675	17.419	1.918	0.118

Ala: Alanine; Arg: Arginine; Asn: Asparagine; Asp: Aspartate; Gln: Glutamine; Glu: Glutamate; Gly: Glycine; His: Histidine; Ile: Isoleucine; Leu: Leucine; Lys: Lysine; Met: Methionine; Phe: Phenylalanine; Pro: Proline; Ser: Serine; Thr: Threonine; Trp: Tryptophan; Tyr: Tyrosine; Val: Valine. Significance key: P<0.001 '***', P<0.01 '**', P<0.05 '*'.

Table S3. P-values from multiple comparisons (Tukey's pairwise comparison) of the free amino acid content in *B. tabaci* females between plant species. Data from each insect line were compared jointly. For each amino acid, analyses were carried out only when the plant factor had a statistically significant effect on the amino acid content in two-way ANOVA (Table S2, Fig. 3).

Amino acid	Contrast	P-value
Glu	Hibiscus - Lantana	<0.001 ***
	Hibiscus - Tobacco	0.775
	Lantana - Tobacco	<0.001 ***
Gln	Hibiscus - Lantana	<0.001 ***
	Hibiscus - Tobacco	0.197
	Lantana - Tobacco	<0.001 ***
His	Hibiscus - Lantana	<0.001 ***
	Hibiscus - Tobacco	0.042 *
	Lantana - Tobacco	0.004 **
Arg	Hibiscus - Lantana	0.006 **
	Hibiscus - Tobacco	0.034 *
	Lantana - Tobacco	0.784
Met	Hibiscus - Lantana	<0.001 ***
	Hibiscus - Tobacco	0.024 **
	Lantana - Tobacco	0.004 *
Phe	Hibiscus - Lantana	<0.001 ***
	Hibiscus - Tobacco	0.026 *
	Lantana - Tobacco	<0.001 ***
Ile	Hibiscus - Lantana	<0.001 ***
	Hibiscus - Tobacco	0.987
	Lantana - Tobacco	<0.001 ***
Leu	Hibiscus - Lantana	<0.001 ***
	Hibiscus - Tobacco	0.742
	Lantana - Tobacco	0.007 *
Lys	Hibiscus - Lantana	<0.001 ***
	Hibiscus - Tobacco	0.260
	Lantana - Tobacco	0.017 *
Pro	Hibiscus - Lantana	<0.001 ***
	Hibiscus - Tobacco	0.008 **
	Lantana - Tobacco	0.452

Significance key : P<0.001 '***', P<0.01 '**', P<0.05 '*'

Table S4. Free amino acid profile in *B. tabaci* females on lantana, determined through HPLC analysis on individual females (n=8) (mean mol% ± SE).

	AA(Q1-HW)	AB(Q1-HW)	AC(Q1-HW)	BB(Q1-HR)	BA(Q1-HR)	BC(Q1-HR)	CC(Q2-ARW)	CA(Q2-ARW)	CB(Q2-ARW)
Ala	18.19 ± 2.49	18.39 ± 1.81	16.96 ± 3.18	27.96 ± 2.21	25.42 ± 1.53	25.05 ± 0.97	24.19 ± 1.52	26.77 ± 1.49	26.23 ± 1.01
Arg	6.42 ± 0.78	7.04 ± 0.56	5.79 ± 0.60	6.98 ± 0.28	6.62 ± 0.50	6.59 ± 0.58	5.30 ± 0.53	5.78 ± 0.39	6.65 ± 0.27
Asn	2.01 ± 0.28	1.84 ± 0.24	2.53 ± 0.62	1.05 ± 0.17	1.20 ± 0.17	1.33 ± 0.08	1.42 ± 0.11	1.34 ± 0.11	1.06 ± 0.08
Asp	0.86 ± 0.14	0.67 ± 0.15	0.87 ± 0.25	0.60 ± 0.15	0.56 ± 0.16	0.32 ± 0.07	0.35 ± 0.06	0.42 ± 0.06	0.42 ± 0.11
Gln	26.76 ± 4.89	22.96 ± 3.76	30.62 ± 4.63	10.00 ± 1.93	14.48 ± 2.18	19.89 ± 3.22	22.02 ± 4.04	17.59 ± 2.57	17.41 ± 3.35
Glu	5.21 ± 0.36	6.26 ± 0.54	5.69 ± 0.26	5.81 ± 0.68	6.64 ± 0.86	5.88 ± 0.32	3.62 ± 0.24	3.69 ± 0.51	4.01 ± 0.57
Gly	4.19 ± 0.58	4.46 ± 0.47	3.77 ± 0.55	6.18 ± 0.23	5.78 ± 0.40	5.67 ± 0.29	4.75 ± 0.24	5.58 ± 0.33	5.45 ± 0.44
His	3.80 ± 0.37	3.47 ± 0.42	3.14 ± 0.26	2.97 ± 0.30	3.33 ± 0.30	3.12 ± 0.42	2.96 ± 0.21	2.96 ± 0.46	3.30 ± 0.28
Ile	1.57 ± 0.29	1.62 ± 0.15	1.43 ± 0.14	1.88 ± 0.17	1.62 ± 0.14	1.40 ± 0.17	1.58 ± 0.16	1.64 ± 0.14	1.54 ± 0.12
Leu	1.59 ± 0.38	1.88 ± 0.24	1.43 ± 0.38	2.67 ± 0.24	2.08 ± 0.21	1.90 ± 0.27	2.29 ± 0.22	2.31 ± 0.21	2.32 ± 0.17
Lys	5.91 ± 1.70	6.83 ± 1.19	4.44 ± 1.00	6.00 ± 1.03	5.33 ± 0.92	4.48 ± 0.72	5.27 ± 1.02	5.12 ± 0.95	4.77 ± 0.65
Met	0.75 ± 0.17	0.88 ± 0.11	0.59 ± 0.13	1.18 ± 0.10	1.04 ± 0.12	0.83 ± 0.10	1.06 ± 0.10	1.08 ± 0.13	1.10 ± 0.09
Phe	1.17 ± 0.16	1.30 ± 0.16	1.19 ± 0.18	1.89 ± 0.14	1.47 ± 0.10	1.52 ± 0.12	1.96 ± 0.35	2.10 ± 0.33	1.66 ± 0.12
Pro	6.64 ± 1.16	7.50 ± 0.44	7.74 ± 1.03	8.57 ± 1.41	9.93 ± 1.34	7.98 ± 1.03	10.05 ± 1.16	8.52 ± 1.18	9.83 ± 1.20
Ser	4.29 ± 0.46	4.13 ± 0.40	3.14 ± 0.43	5.16 ± 0.40	4.69 ± 0.59	4.34 ± 0.34	3.85 ± 0.20	4.54 ± 0.20	4.60 ± 0.49
Thr	2.28 ± 0.53	2.77 ± 0.44	2.88 ± 0.65	3.52 ± 0.56	2.68 ± 0.37	3.04 ± 0.38	3.22 ± 0.75	3.54 ± 0.87	3.30 ± 1.23
Trp	1.31 ± 0.27	1.23 ± 0.13	0.79 ± 0.07	1.07 ± 0.09	0.95 ± 0.06	1.00 ± 0.12	1.06 ± 0.15	1.16 ± 0.12	0.94 ± 0.03
Tyr	3.58 ± 0.57	3.26 ± 0.47	3.79 ± 0.73	2.91 ± 0.11	2.73 ± 0.17	2.96 ± 0.23	2.29 ± 0.12	2.77 ± 0.21	2.40 ± 0.17
Val	3.50 ± 0.38	3.55 ± 0.29	3.23 ± 0.31	3.61 ± 0.19	3.44 ± 0.26	2.72 ± 0.26	2.77 ± 0.15	3.10 ± 0.22	3.00 ± 0.22

Ala: Alanine; Arg: Arginine; Asn: Asparagine; Asp: Aspartate; Gln: Glutamine; Glu: Glutamate; Gly: Glycine; His: Histidine; Ile: Isoleucine; Leu: Leucine; Lys: Lysine; Met: Methionine; Phe: Phenylalanine; Pro: Proline; Ser: Serine; Thr: Threonine; Trp: Tryptophan; Tyr: Tyrosine; Val: Valine. All individuals are F1 hybrid females obtained from the crosses of laboratory lineages: AA(Q1-HW), BB(Q1-HR), or CC(Q2-ARW). F1 females key: Nuclear genotype(Cytype); Nuclear genotype: letters represent the maternally (first) and the paternally (second) inherited nuclear genotype; Cytype: Mitochondrial group+S-symbionts; S-symbionts: A: *Arsenophonus*, H: *Hamiltonella*, R: *Rickettsia*, W: *Wolbachia*.

Table S5. Two-way ANOVA table investigating the effect of insect's cytotype and genotype on the free amino acid content in *B. tabaci* females on lantana.

Amino Acid	Parameter	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Asp	Cytotype	2	2.108	1.054	6.714	0.002	**
	Cytotype:Genotype	6	0.596	0.099	0.633	0.703	
Glu	Cytotype	2	75.014	37.507	17.365	<0.001	***
	Cytotype:Genotype	6	8.497	1.416	0.656	0.685	
Asn	Cytotype	2	12.851	6.426	11.906	<0.001	***
	Cytotype:Genotype	6	2.982	0.497	0.921	0.486	
Ser	Cytotype	2	9.214	4.607	3.446	0.038	*
	Cytotype:Genotype	6	11.762	1.960	1.466	0.204	
Gln	Cytotype	2	1774.246	887.123	8.876	<0.001	***
	Cytotype:Genotype	6	736.487	122.748	1.228	0.304	
His	Cytotype	2	2.151	1.075	1.140	0.326	
	Cytotype:Genotype	6	2.883	0.480	0.509	0.799	
Gly	Cytotype	2	37.353	18.677	13.917	<0.001	***
	Cytotype:Genotype	6	6.305	1.051	0.783	0.586	
Thr	Cytotype	2	6.226	3.113	0.807	0.451	
	Cytotype:Genotype	6	4.915	0.819	0.212	0.972	
Arg	Cytotype	2	8.240	4.120	1.899	0.158	
	Cytotype:Genotype	6	14.414	2.402	1.107	0.368	
Ala	Cytotype	2	1049.734	524.867	17.772	<0.001	***
	Cytotype:Genotype	6	79.495	13.249	0.449	0.843	
Tyr	Cytotype	2	13.731	6.865	6.132	0.004	**
	Cytotype:Genotype	6	2.379	0.396	0.354	0.905	
Val	Cytotype	2	2.727	1.364	2.515	0.089	
	Cytotype:Genotype	6	4.508	0.751	1.385	0.234	
Met	Cytotype	2	1.569	0.784	6.922	0.002	**
	Cytotype:Genotype	6	0.855	0.142	1.257	0.290	
Trp	Cytotype	2	0.131	0.065	0.455	0.637	
	Cytotype:Genotype	6	1.475	0.246	1.710	0.133	
Phe	Cytotype	2	5.704	2.852	8.694	<0.001	***
	Cytotype:Genotype	6	1.717	0.286	0.872	0.520	
Ile	Cytotype	2	0.101	0.051	0.217	0.806	
	Cytotype:Genotype	6	1.128	0.188	0.804	0.571	
Leu	Cytotype	2	6.375	3.188	5.604	0.006	**
	Cytotype:Genotype	6	3.429	0.571	1.005	0.430	
Lys	Cytotype	2	5.590	2.795	0.311	0.734	
	Cytotype:Genotype	6	33.557	5.593	0.623	0.711	
Pro	Cytotype	2	59.907	29.954	2.899	0.062	
	Cytotype:Genotype	6	32.493	5.415	0.524	0.788	

Alanine; Arg: Arginine; Asn: Asparagine; Asp: Aspartate; Gln: Glutamine; Glu: Glutamate; Gly: Glycine; His: Histidine; Ile: Isoleucine; Leu: Leucine; Lys: Lysine; Met: Methionine; Phe: Phenylalanine; Pro: Proline; Ser: Serine; Thr: Threonine; Trp: Tryptophan; Tyr: Tyrosine; Val: Valine. Significance key: P<0.001 '***', P<0.01 '**', P<0.05 '*'.

Table S6. P values from multiple comparisons (Tukey's pairwise comparison) of the free amino acid content in *B. tabaci* females on lantana between cytotypes. For each amino acid, analyses were carried out only when the factor factor had a significant effect on the amino acid content in two-way ANOVA (Fig. 6, Table S5).

Amino acid	Contrast	p-value	
Asp	Q1-HW == Q1-HR	0.026	*
	Q1-HW == Q2-ARW	0.002	**
	Q1-HR == Q2-ARW	0.683	
Glu	Q1-HW == Q1-HR	0.630	
	Q1-HW == Q2-ARW	<0.001	***
	Q1-HR == Q2-ARW	<0.001	***
Asn	Q1-HW == Q1-HR	<0.001	***
	Q1-HW == Q2-ARW	<0.001	***
	Q1-HR == Q2-ARW	0.923	
Ser	Q1-HW == Q1-HR	0.029	*
	Q1-HW == Q2-ARW	0.335	
	Q1-HR == Q2-ARW	0.459	
Gln	Q1-HW == Q1-HR	<0.001	***
	Q1-HW == Q2-ARW	0.024	*
	Q1-HR == Q2-ARW	0.316	
Gly	Q1-HW == Q1-HR	<0.001	***
	Q1-HW == Q2-ARW	0.004	**
	Q1-HR == Q2-ARW	0.161	
Ala	Q1-HW == Q1-HR	<0.001	***
	Q1-HW == Q2-ARW	<0.001	***
	Q1-HR == Q2-ARW	0.963	
Tyr	Q1-HW == Q1-HR	0.077	
	Q1-HW == Q2-ARW	0.003	**
	Q1-HR == Q2-ARW	0.432	
Met	Q1-HW == Q1-HR	0.017	*
	Q1-HW == Q2-ARW	0.002	**
	Q1-HR == Q2-ARW	0.785	
Phe	Q1-HW == Q1-HR	0.041	*
	Q1-HW == Q2-ARW	<0.001	***
	Q1-HR == Q2-ARW	0.230	
Leu	Q1-HW == Q1-HR	0.025	*
	Q1-HW == Q2-ARW	0.009	**
	Q1-HR == Q2-ARW	0.917	

Cyotype key: Mitochondrial group+S-symbionts; S-symbionts : A: *Arsenophonus*, H: *Hamiltonella*, R: *Rickettsia*, W: *Wolbachia*. Significance key: P<0.001 '***', P<0.01 '**', P<0.05 '*'

Table S7. Plants parts used for the free amino acids analysis of plant leaves

Plant	Stage	Leaves
<i>Hibiscus moscheutos</i>	2-month-old seedlings, 13 th true leaf stage	9 th , 10 th , 11 th true leaves
<i>Lantana camara</i>	1-month-old branchings	3 rd , 4 th , 5 th leaves from the branches apex
<i>Nicotiana tabacum</i>	2-month-old seedlings, 8 th true leaf stage	6 th true leaf

Plant choice for oviposition in the phytophagous *Bemisia tabaci*: Cytotype knows the best!

Sylvain Benhamou ^{a,b},
Federica Calevro ^b,
Emmanuel Desouhant ^a,
Hélène Henri ^a,
Laurence Mouton ^a,
Fabrice Vavre ^a

^a Université de Lyon, Université Lyon 1, CNRS, VetAgro Sup, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, UMR 5558, F-69622 Villeurbanne, France

^b Univ Lyon, INRAE, INSA Lyon, BF2I, UMR 203, F-69621 Villeurbanne, France

Avant-propos

Dans le chapitre précédent, nous avons démontré expérimentalement que le cytotype (le compartiment cytoplasmique d'un individu, dont ses symbiotes) était un déterminant majeur de la capacité de *B. tabaci* à se nourrir et engendrer une descendance sur le lantana, une plante non favorable pour cet insecte. Les différents cytotypes étudiés se différenciant par la composition de leur cortège de symbiotes secondaires, nous avons émis l'hypothèse que ces symbiotes pourraient influencer la capacité de *B. tabaci* à exploiter le lantana.

Dans ce second chapitre, nous avons d'abord cherché à déterminer si (i) les symbiotes secondaires influencent la capacité de *B. tabaci* à exploiter différentes espèces de plantes hôtes. Pour cela, nous avons analysé la fécondité des femelles *B. tabaci* et le taux d'éclosion de leurs œufs sur l'hibiscus, une plante favorable pour *B. tabaci*, ainsi que sur le lantana. Ces mesures ont été réalisées chez des femelles hybrides F1 génétiquement homogènes mais associées à différents cytotypes. Nos résultats confirment que le cytotype influence la capacité de *B. tabaci* à pondre des œufs sur le lantana. En revanche, nous n'avons pas observé ce phénomène sur l'hibiscus, ce qui montre que l'effet du cytotype sur la fécondité de *B. tabaci* est dépendant de la plante hôte.

Ensuite, nous avons réalisé des expériences de choix de plante entre l'hibiscus et le lantana de manière à déterminer (ii) si *B. tabaci* fait un choix de plante pour la ponte et (iii) si et comment les symbiotes secondaires influencent ce comportement. Nos résultats indiquent que le cytotype influence le comportement de ponte de *B. tabaci* en situation de choix. En effet, selon leur cytotype, les femelles ont soit choisi de pondre majoritairement sur l'hibiscus en évitant le lantana, soit n'ont pas montré de préférence entre ces deux plantes.

Considérés dans leur ensemble, nos résultats suggèrent qu'en l'absence d'un cytotype facilitant l'exploitation du lantana, les femelles *B. tabaci* évitent cette plante et préfèrent pondre sur l'hibiscus. Ce comportement d'évitement pourrait être une réponse adaptative de l'insecte qui s'abstiendrait de pondre des œufs sur une plante non-favorable, difficile à exploiter.

Présentés sous la forme d'un article scientifique, ces travaux seront soumis prochainement dans le journal *Proceedings of the Royal Society B*.

Abstract

Most phytophagous insects harbor symbiotic microorganisms, which are known to facilitate their host development, survival and reproduction. However, the influence of these symbionts on the plant choice is less studied. The whitefly *Bemisia tabaci* is a highly diversified species complex harboring a nutritional ‘primary’ endosymbiont, allowing its host to thrive on plant sap, along with seven facultative ‘secondary’ endosymbionts (S-symbionts). Some of them may also contribute to their hosts’ plant utilization abilities. Here, we first investigate the influence of S-symbionts on whiteflies oviposition rate on hibiscus or lantana, which are relatively favorable and unfavorable host plants for *B. tabaci*, respectively. Then, we address whether S-symbiont composition influence whiteflies oviposition choice between these two plants. Experiments were performed with genetically homogeneous whiteflies harboring different cytotypes (mitochondria and symbionts). While oviposition rate was high and homogeneous on hibiscus, it was significantly lower on lantana, with differences between cytotypes, suggesting that particular cytotypes may facilitate the utilization of lantana by whiteflies. Cytotype also influences plant choice for oviposition since, according to their cytotype, whiteflies either showed no plant preference, or preferred hibiscus over lantana. Altogether, our results indicate that without a cytotype facilitating the utilization of lantana, whiteflies may adaptively avoid this host plant. Since cytotypes harbor different S-symbiont communities, we argue that the influence of these symbionts on whitefly oviposition behavior is very likely.

Keywords: oviposition behavior, plant choice, cytotype, symbionts, *Bemisia tabaci*

Introduction

Microbial symbiosis is widespread in eukaryotes. While some symbionts are parasites with negative effects on their host, others are mutualists with beneficial effects, or commensals with no apparent effects (Buchner, 1965; Ferrari and Vavre, 2011; Tipton, Darcy and Hynson, 2019). Many parasites induce host behavioral changes in adaptive ways that improve their own probability of transmission and/or survival, thereby benefiting parasite fitness, also known as ‘parasite manipulation’ (Poulin, 2010; Lewis and Lize, 2015; Heil, 2016; Vale *et al.*, 2018). On the contrary, behavioral changes following infection may be interpreted as benefiting the host, such as adaptive sickness behaviors (Hart, 2011; Vale *et al.*, 2018). Host behavioral modifications induced by mutualists and commensal symbionts received less attention. However, recent discoveries indicate that these types of symbionts may have various effects on insects behaviors related to locomotion (Schretter *et al.*, 2018), reproduction (Sharon *et al.*, 2010), foraging (Leitão-Gonçalves *et al.*, 2017; Wong *et al.*, 2017; Angelella *et al.*, 2018; Akami *et al.*, 2019; Qiao *et al.*, 2019; Leybourne *et al.*, 2020; Ying *et al.*, 2021) or interactions with other organisms (Dion *et al.*, 2011; Polin *et al.*, 2014; Sochard *et al.*, 2021a) (for review, see Hosokawa et Fukatsu, 2020).

Most insect species are associated with microbial symbionts which colonize their gut, body cavities or cells (Hansen and Moran, 2014). In phytophagous insects, mutualistic symbionts can facilitate the utilization of food sources that are unbalanced (*e.g.*, phloem sap) or difficult to digest (*e.g.*, wood), through the provision of essential and otherwise limiting nutrients, the detoxification of plant defense compounds or the breakdown of plant polymers (Frago *et al.*, 2012; Hansen and Moran, 2014). However, less is known about the influence of symbionts in host plant selection. Nevertheless, recent works in frugivorous flies showed that the gut symbiotic bacteria can affect the food choice and foraging decisions under laboratory conditions in the fruit fly *Drosophila melanogaster* (Leitão-Gonçalves *et al.*, 2017; Wong *et al.*, 2017; Qiao *et al.*, 2019) and the oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Akami *et al.*, 2019). Other studies in phloem-sap feeding hemipterans showed that infection by intracellular bacteria can affect their hosts’ interaction with plants by modifying plant probing behavior in the cowpea aphid *Aphis craccivora* (Angelella *et al.*, 2018), the bird cherry oat aphid *Rhopalosiphum padi* (Leybourne *et al.*, 2020) and the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Ying *et al.*, 2021). However, intracellular symbionts have no or only moderate influence on host plant selection in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Sochard, Dupont, *et al.*, 2021; Sochard, Le Floch, *et al.*, 2021).

Studies on a broader spectrum of host-symbiont associations are needed to better assess the potential role of symbionts in modulating insects' diet breadth.

The tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) is a highly diversified cryptic species complex. To date, 42 putative species have been proposed in phylogenetic analyses based on *B. tabaci* mitochondrial cytochrome oxidase 1 (*mtCOI*) sequences (Dinsdale *et al.*, 2010; De Barro *et al.*, 2011; Firdaus *et al.*, 2013; Roopa *et al.*, 2015). Species can be further divided into genetic 'mitochondrial' groups, as in the case of the Mediterranean (MED) species, which can be splitted into three groups: Q1, Q2 and Q3 (Mouton *et al.*, 2015; Vyskočilová *et al.*, 2018). Previous studies reported significant variation in plant preference and/or utilization capabilities between *B. tabaci* species. Some are 'generalist' species with a broad host plant range, while others can be considered as 'specialist' species, with a restricted host plant range (Malka *et al.*, 2018). Specialization may also occur within species, as reported in the MED species. Indeed, while the Q1 and Q2 groups are relatively polyphagous (Vyskočilová *et al.*, 2019), field observations and laboratory experiments indicate that the Q3 group, only identified in Burkina Faso to date, has a more restricted host range and seems to specialize on lantana (*Lantana camara*) (Romba and Gnankiné, 2018; Romba *et al.*, 2018), a host plant that is otherwise unfavorable to the MED species (Benhamou *et al.*, 2021). Other comparative experiments revealed host range differences between Q1 and Q2, but also among Q1 populations from different localities (Vyskočilová *et al.*, 2019).

As other phloem sap-feeding insects, *B. tabaci* harbors an obligate 'primary' intracellular symbiont (P-symbiont), providing its host with essential amino acids necessary for its development, survival and reproduction, which are limited in the phloem sap (Baumann, 2005; Douglas, 2009). This γ -proteobacteria, *Portiera aleyrodidarum* (hereafter, *Portiera*), is common to all members of the *B. tabaci* species complex (Thao and Baumann, 2004). *Portiera* is strictly vertically transmitted and resides within the cytoplasm of specialized host cells, the bacteriocytes, associated to form an organ, the bacteriome (Gottlieb *et al.*, 2008). In addition to their P-symbionts, insects often harbor facultative 'secondary' symbionts (S-symbionts), which are not required for their hosts' survival. They are predominantly vertically transmitted, but can also be horizontally transmitted. Seven bacterial genera of S-symbionts have been reported to date in *B. tabaci*: *Arsenophonus*, *Cardinium*, *Fritschea*, *Hamiltonella*, *Hemipteriphilus*, *Rickettsia* and *Wolbachia* (Zchori-fein and Brown, 2002; Everett *et al.*, 2005; Gottlieb *et al.*, 2006; Bing *et al.*, 2013; H. Wang *et al.*, 2020), with up to four present in the same insect body (Zchori-Fein *et al.*, 2014). They all co-occur within the same bacteriocytes as *Portiera*, but some of them can also infect other tissues of the host (Gottlieb *et al.*, 2008). Analyses of *B.*

tabaci S-symbionts suggest that some of them could contribute to their hosts' nutrition. Indeed, *Portiera* undergone drastic genome reduction (Rao *et al.*, 2015), as consequence of its prolonged intracellular lifestyle (Moran *et al.*, 2008; Mccutcheon and Moran, 2012). It lost almost all the genes involved in the synthesis of vitamins and cofactors, and several of its essential amino acid pathways are incomplete (Rao *et al.*, 2015), functions that S-symbionts may replace or complement (Rao *et al.*, 2015; Opatovsky *et al.*, 2018; Ren *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020). As an exemple, *Hamiltonella* can provide vitamins and cofactors (Rao *et al.*, 2015; Ren *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020), and could also complete the missing steps of the essential amino acid lysine biosynthesis pathway of *Portiera* (Rao *et al.*, 2015). Importantly, S-symbionts composition differ between mitochondrial groups, both across *et al.*, 2014) and within (Gueguen *et al.*, 2010; Gnankiné *et al.*, 2013) species, raising the possibility that these symbionts may contribute to *B. tabaci* species complex ecological diversification.

Recently, we demonstrated that S-symbionts might affect the range of the host plants suitable for *B. tabaci*. Indeed, we showed that cytotype (referring to the cytoplasmic characteristics of the insect line, including the mitochondria and intracellular symbionts) affects whitefly capability to feed and oviposit on lantana (*Lantana camara*), an unfavorable host plant to *B. tabaci* (Benhamou *et al.*, 2021). The aims of the present study were to investigate whether whiteflies exhibit plant choice for oviposition and whether the S-symbionts community may influence their host's oviposition behavior. To fulfil these objectives, we performed choice experiments between a plant known to be favorable for *B. tabaci*, hibiscus (*Hibiscus moscheutos*), and the unfavorable lantana.

Material and methods

Insects

Three *B. tabaci* parental lines (F0) were used in this study, AA(Q1-HW), BB(Q1-HR) and CC(Q2-ARW) from the Mediterranean (MED) species that belong to the mitochondrial groups Q1 or Q2, and that are associated with different S-symbionts (**Table 1**). The first uppercase double letters indicate females' diploid nuclear genotype (AA, BB or CC). Characters within brackets refer to their cytotype, including their mitochondrial group (Q1 or Q2) and resident S-symbionts (HW, HR or ARW; A: *Arsenophonus*, H: *Hamiltonella*, R: *Rickettsia*, W: *Wolbachia*). Insect lines were regularly reared on hibiscus plants in mesh cages in climate-controlled rooms at 26°C ± 1°C and 70% relative humidity with a 14L:10D photoperiod. The same climate-controlled conditions have been used for the whole study.

Table 1. *Bemisia tabaci* laboratory lines used in this study.

Line	Nuclear Genotype	Cytotype		Year	Collection information	
		Mitochondrial group	Secondary endosymbionts ^a		Location (Country)	Plant
AA(Q1-HW)	AA	Q1	HW	2012	Tympaki (Greece)	Eggplant <i>Solanum</i> sp.
BB(Q1-HR)	BB	Q1	HR	2012	Les Ponts-de-Cé (France)	Mandevilla <i>Mandevilla</i> sp.
CC(Q2-ARW)	CC	Q2	ARW	2018	Lyon (France)	Lantana <i>Lantana camara</i>

^a A: *Arsenophonus*, H: *Hamiltonella*, R: *Rickettsia*, W: *Wolbachia*.

To separate cytotype-related and genotype-related effects, experiments were performed on F1 females obtained from the 9 possible crosses between the F0 parental lines (**Table 2**, experimental design shown in **Fig. S1**), based on the procedure described by Benhamou *et al.* (Benhamou *et al.*, 2021). Crosses produced F1 females with identical nuclear genotypes but different cytotypes, *e.g.*, AB(Q1-HW) and BA(Q1-HR), or the opposite, *i.e.*, females with similar cytotype but different genotypes (*e.g.*, AA(Q1-HW), AB(Q1-HW) and AC(Q1-HW)). The three lines were synchronized as follows: adults from the hibiscus stock cages were allowed to mate and oviposit for 7 days on cotton leaves. To keep them fresh, leaves were fixed on their adaxial side on a 1cm layer of 2% Agar (Sigma-Aldrich®) in plastic Petri dishes (90mm in diameter). Petri dishes were placed upside-down to simulate the situation of leaves attached to a plant with the abaxial surface down. Cotton was used as a 'neutral' plant (*i.e.*, not used in the experiments) to avoid possible effect of the F0 individuals' plant on the following F1

generation. After the first adult emergence, Petri dishes were monitored every 5 hours to collect newly emerged F0 adults. Individuals' sex was determined based on their genitalia, by observation under a stereomicroscope (Leica EZ4, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany). F0 females (<5h) were considered virgin as newly emerged adults do not immediately mate. This was confirmed by the absence of females in their offspring (*B. tabaci* reproduces by arrhenotoky, which means that unmated females produce only haploid eggs which develop into males). Each cross was made on cotton (90mm in diameter Petri dishes) using groups of 15 F0 males and 15 F0 females (3 replicates for each). These 30 individuals were left for 1 week on the same cotton leaf to mate and oviposit. Upon emergence, F1 virgin females (<5-h old) were collected for further experiments described hereafter.

Table 2. Nuclear genotypes and cytotypes of *B. tabaci* F1 females^a.

		Mother (F0)		
		AA(Q1-HW)	BB(Q1-HR)	CC(Q2-ARW)
Father (F0) ^b	A(Q1-HW)	AA(Q1-HW)	BA(Q1-HR)	CA(Q2-ARW)
	B(Q1-HR)	AB(Q1-HW)	BB(Q1-HR)	CB(Q2-ARW)
	C(Q2-ARW)	AC(Q1-HW)	BC(Q1-HR)	CC(Q2-ARW)

^aF1 Females identification: Nuclear genotype(Cytotype); Nuclear genotype: letters indicate the maternally (first) and the paternally (second) inherited nuclear genotype; Cytotype: Mitochondrial group + S-symbionts; S-symbionts: A: *Arsenophonus*; H: *Hamiltonella*; R: *Rickettsia*; W: *Wolbachia*.

^bF0 Fathers genotypes (A, B or C) are indicated by only one letter as males are haploid.

For each parental line (**Table 1**) and F1 cross (**Table 2**), mitochondrial group and S-symbiont infection status (*Portiera*, *Arsenophonus*, *Hamiltonella*, *Rickettsia*, *Wolbachia*) were checked on 8 females to ensure that the expected cytotype was correct. Total DNA was extracted from individual whitefly using the NucleoSpin 95 Tissue kit (Macherey Nagel GmbH, Düren, Germany) following the manufacturer instructions. Samples were crushed in a mix of 60µL of lysis buffer and 8µL of protein K (22mg/mL) with 1.4mm sterile stainless steel beads using a TissueLyser (Qiagen, Hilden, Germany). Elution was done in 100µL of buffer and DNA was then stored at -20°C. The mitochondrial haplotype was identified by PCR-RFLP according to the method described in Henri *et al.* (Henri *et al.*, 2013). The S-symbiont infection status was determined using quantitative PCR (qPCR) using the following genes: *16S rRNA* for *Arsenophonus*, *dnaK* for *Hamiltonella*, *16S rRNA* for *Portiera*, *gltA* for *Rickettsia* and *ftsZ* for *Wolbachia* (**Table 3**) The β -actin from *B. tabaci* (**Table 3**) was used a DNA extraction control. The PCR amplifications were performed on a CFX-96 Real Time PCR machine (Bio-Rad,

Hercules, USA). Each reaction consisted of 5 μ L of SYBR[®] Green 2x Supermix (Bio-rad) added with 2 μ L of DNA sample, 2 μ L of nuclease-free water, and 0.5 μ L of forward and reverse primers (500nM).

Table 3. qPCR primers used in this study.

Organism	Gene	Primers	Primer sequence	Fragment size (bp)	Hybridization T° (°C)	Reference
<i>Bemisia tabaci</i>	β -actin	wf-Bactin-F	5'-TCTTCCAGCCATCCTTCTTG-3'	130	63	(Sinisterra <i>et al.</i> , 2005)
		wf-Bactin-R	5'-CGGTGATTTCTTCTGCATT-3'			
<i>Portiera</i>	16S	Port73-F	5'-GTGGGGAATAACGTACGG-3'	193	60	(Caspi-Fluger <i>et al.</i> , 2011)
		Port266-R	5'-CTCAGTCCCAGTGTGGCTG-3'			
<i>Arsenophonus</i>	16S	ArsF3	5'-GTCGTGAGGAARGTGTARGGT-3'	765	63	(Duron <i>et al.</i> , 2008)
		ArsR3	5'-CCTYTATCTCTAAAGGMTTCGCTGGATG-3'			
<i>Hamiltonella</i>	dnaK	dnaK-F	5'-GGTTCAGAAAAAAGTGGCAG-3'	155	60	(Moran <i>et al.</i> , 2005)
		dnaK-R	5'-CGAGCGAAAGAGGAGTGAC-3'			
<i>Rickettsia</i>	GltA	glt375-F	5'-TGGTATGCATCGCTTTGGG-3'	199	60	(Caspi-Fluger <i>et al.</i> , 2011)
		glt574-R	5'-TTTCTTTAAGCACTGCAGCACG-3'			
<i>Wolbachia</i>	FtsZ	F2	5'-TTGCAGAGCTTGGACTTGAA-3'	400	55	(Vavre <i>et al.</i> , 1999)
		R2	5'-CATATCTCCGCCACCAGTAA-3'			

Plants

Plants were grown in the same climate-controlled conditions as the ones used for rearing lines, in insect-free rooms. Cotton, *Gossypium hirsutum* L. (Malvaceae) cv. 'Elpida', and hibiscus, *Hibiscus moscheutos* L. (Malvaceae) cv. 'Honeymoon', were grown from seeds while lantana, *Lantana camara* L. (Verbenaceae) was vegetatively propagated from cuttings in pots using 75:25 (v/v) mix of potting soil and vermiculite. For all the experiments performed in this study, fully developed leaves, randomly collected from 2 month-old plants, have been used.

No-choice oviposition and egg hatching rate

The influence of whitefly cytotype on females' oviposition and egg hatching rate on hibiscus and lantana was investigated using no-choice oviposition tests. F1 virgin females (<5 h-old), which developed on cotton, were put individually on hibiscus or lantana leaf disks (20mm in diameter, to standardize the leaf area) fixed on an agar layer in Petri dishes (55mm in diameter), placed upside down. After 7 days, females were removed and the number of eggs laid (oviposition) was recorded under a stereomicroscope. Ten days later, the number of eggs that hatched was estimated by counting the number of larvae (including both live and dead larvae). This method was used because the larvae, even dead for a few weeks, are easier to identify than the eggs (pers. com.). We also calculated the number of eggs that did not hatch

(number of eggs laid – number of eggs hatched). This experiment was performed in three independent experimental blocks, and a total of 13 to 17 replicates were obtained per type of F1 female and per plant.

Oviposition plant choice

Oviposition plant choice was investigated in binary choice experiments between hibiscus and lantana. The protocol used was based on the one developed by Shah and Liu (Shah and Liu, 2013) with several modifications. Choice arenas (produced 1 hour before use) consisted of one lantana and one hibiscus leaf disk (20mm in diameter), fixed on their adaxial side on an agar layer in a Petri dish (90mm in diameter). Disks were arranged opposite and at equal distance (20mm) from the center of the arena. Newly emerged F1 virgin females (<5-h old), which developed on cotton, were transferred on fresh cotton leaves (55mm in diameter Petri dishes) for 2 days to ensure they were old enough to oviposit. Tests were initiated every day in the morning at the same hour with the introduction of one F1 female (2-d old) into the center of each arena, which were then placed upside down. The next day 32 hours later, females' location was recorded and the number of eggs laid on each leaf disk was counted under a stereomicroscope. As far as possible, experiments were run every day for all the 9 crosses simultaneously. Measures were considered to be valid when females were found alive on a leaf disk and if they laid at least one egg at the end of the tests. Three experimental blocks were performed, and a total of 31 to 37 valid measures were obtained per condition (89% to 97% of the total number of replicates).

Statistical analyses

For no-choice experiments, oviposition and egg average hatching were analyzed by a generalized linear model (GLM) (with a log link and a negative binomial or a quasi-binomial error structure, respectively) with the plant species, the insect cytotype, the insect nuclear genotype (as a nested effect within the cytotype) and the experimental block set as explanatory variables. The average hatching rate was calculated according to the formula (a), where i is the replicate number and N is the total number of replicates. Eggs that hatched were considered as 'successes' ("No.successes"), and eggs that did not hatch as 'failures' ("No.failures").

$$(a) \text{ average proportion of successes} = \frac{\sum_{i=1}^N (\text{No.successes})}{\sum_{i=1}^N (\text{No.successes} + \text{No.failures})}$$

For the plant choice experiment, oviposition was analyzed by a GLM (with a quasi-binomial error structure) with the insect cytotype, the insect nuclear genotype (integrated into the model as a nested effect within the cytotype) and the experimental block set as explanatory variables. The response variable is expressed as the average proportion of eggs laid on lantana compared to the total number of eggs laid on lantana (accounted as ‘successes’) plus hibiscus (accounted as ‘failures’), given by the formula (a). From the complete models, we performed a model simplification through a backward procedure (Crawley, 2013). Multiple comparison analyses were carried out by Tukey’s test (Tukey, 1949) to investigate statistical relationships between explanatory variables levels using the *emmeans* R package (Russell, 2020). The *emmeans* R package was also used to extract means, average proportions and 95% confidence intervals (95%CI) from the models. All data analyses were performed using the R software (R Development Core Team 2011; <http://www.R-project.org>).

Results

No-choice oviposition and hatching rate

We measured females' oviposition and egg hatching rate on hibiscus or lantana in no-choice experiments to determine the influence of whitefly cytotype on females' ability to feed and produce offspring on those plants (**Fig. 1**). For the number of eggs laid there was a significant interaction between the plant species and the insect cytotype [$\chi^2(2) = 103.20$, $P < 0.001$]. On the other hand, for a given cytotype, there was no difference between genotypes [$\chi^2(6) = 3.57$, $P = 0.74$], and there was no tripartite interaction between plant, cytotype and genotype [$\chi^2(6) = 1.43$, $P = 0.96$]. There was no difference between the three experimental blocks [$\chi^2(2) = 1.60$, $P = 0.45$]. The number of eggs laid was homogeneous among cytotypes and genotypes on hibiscus (mean, 37.71), but was significantly reduced on lantana for all cytotype/genotype combinations, with differences between cytotypes. Indeed, females with the cytotype Q1-HW consistently laid a lower number of eggs (mean, 5.98) than females with cytotypes Q1-HR (mean, 23.50) or Q2-ARW (mean: 21.88) ($P < 0.001$), whatever the nuclear genotype (**Fig. 1A**). We didn't detect any influence of the plant species [$F(1,238) = 1.35$, $P = 0.25$], the insect cytotype [$F(2,238) = 0.65$, $P = 0.52$], the insect genotype [$F(6,238) = 0.27$, $P = 0.95$] or the experimental block [$F(2,202) = 1.91$, $P = 0.15$] on the average egg hatching rate (**Fig. 1B**).

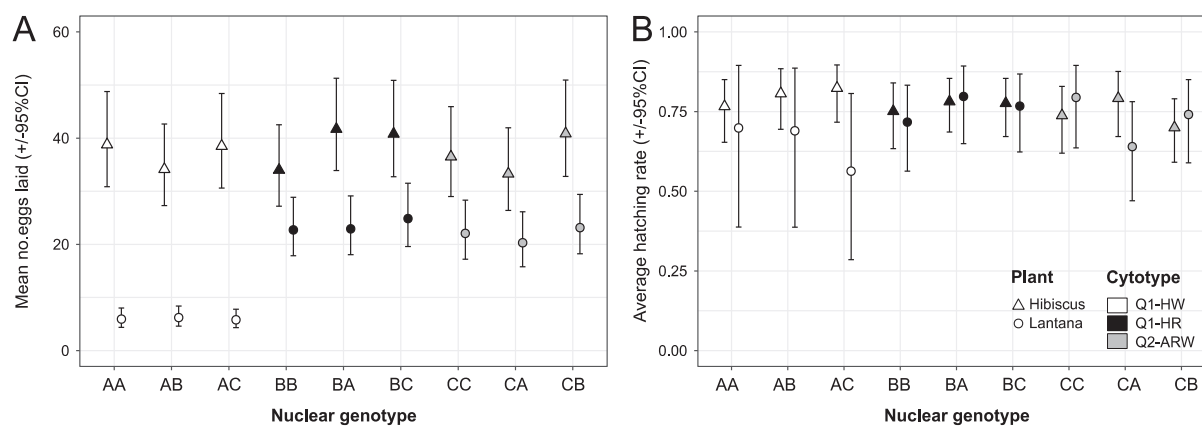


Figure 1. Effect of *B. tabaci* female nuclear genotype and cytotype on *B. tabaci* on the oviposition and egg hatching rate on hibiscus and lantana (no choice experiment). (A) Mean number of eggs laid per female ($\pm 95\%$ confidence interval (CI)) over 7 days. (B) Average egg hatching rate ($\pm 95\%$ CI) after 10 days. All individuals are F1 females obtained from crosses of laboratory lines: AA(Q1-HW), BB(Q1-HR), or CC(Q2-ARW). F1 female legend key: Nuclear genotype: letters indicate the maternally (first) and the paternally (second) inherited nuclear genotype; Cytotype: mitochondrial group+S-symbionts (A: *Arsenophonus*, H: *Hamiltonella*, R: *Rickettsia*, W: *Wolbachia*). Thirteen to 17 individual measures were obtained per type of F1 female and per plant.

Oviposition choice according to the insect cytotype

We investigated the influence of the whiteflies' cytotype on female plant choice for oviposition between hibiscus and lantana. Oviposition choice is expressed here as the mean proportion of eggs laid on lantana compared to the total number of eggs laid on the two plants (**Fig. 2**). There was no effect of the experimental block factor [$F(2,278) = 0.13, P = 0.88$] and no difference between genotypes for a given cytotype [$F(6,296) = 0.82, P = 0.56$]. In contrast, there was a significant effect of the insect cytotype on oviposition plant choice [$F(2,296) = 17.46, P < 0.001$]: females with the cytotype Q1-HW laid a greater proportion of eggs on hibiscus (around 80%) than on lantana (around 20%), while females with the cytotype Q1-HR or Q2-ARW showed no oviposition preference, *i.e.*, the average proportion of eggs laid on hibiscus and lantana was merely 50%-50%. Most females (95%) laid eggs on a single leaf disk, the one they were on at the end of the experiment, and only a few of them (5%) laid eggs on both leaf disks (**Fig. S2**). Moreover, during this short-term time period (32h), females laid a similar amount of eggs (mean, 5.62), whatever they had chosen hibiscus, lantana or both plants, and whatever their cytotype or genotype, with one exception: females with the cytotype Q1-HW not only chose lantana less often than hibiscus, but when they did, they laid less eggs (mean, 3.55) than the ones choosing hibiscus (mean, 5.16) ($P = 0.047$) (**Fig. S3**).

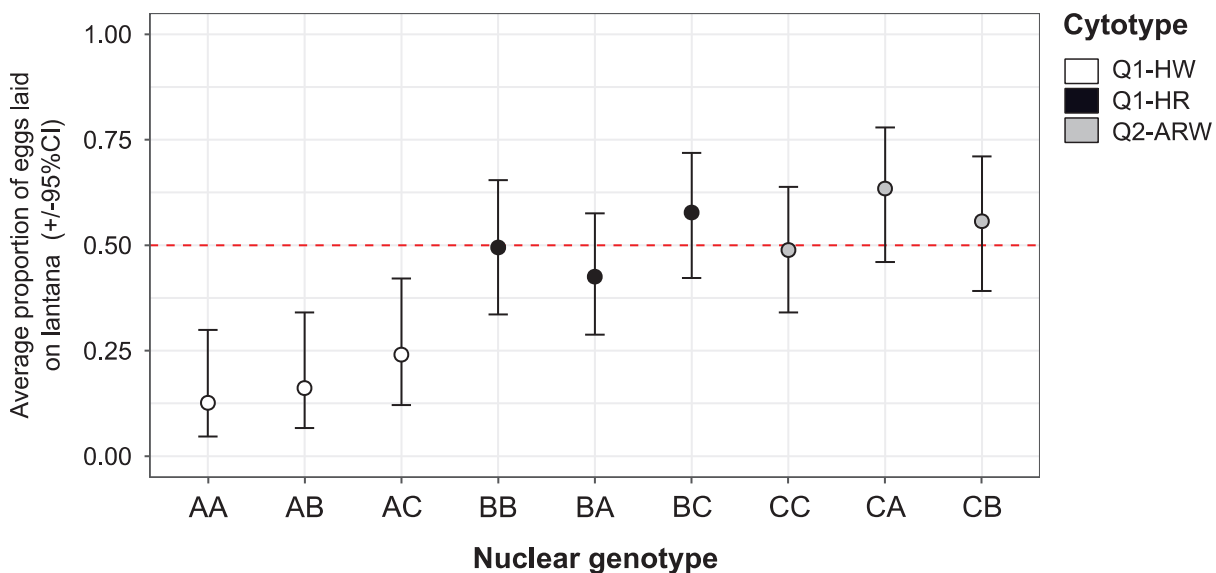


Figure 3. Effect of *B. tabaci* female nuclear genotype and cytotype on oviposition plant choice of hibiscus vs lantana. Results are expressed as the average proportion of eggs laid on lantana compared to the total number of eggs laid on the two plants over the course of a 32h trial. Measures were performed on individual F1 females obtained from crosses of laboratory lines: AA(Q1-HW), BB(Q1-HR), or CC(Q2-ARW). F1 females legend key: Nuclear genotype: letters indicate the maternally (first) and the paternally (second) inherited nuclear genotype; Cytotype: mitochondrial group + S-symbionts (A: *Arsenophonus*, H: *Hamiltonella*, R: *Rickettsia*, W: *Wolbachia*). The oviposition choice was investigated from 31 to 37 individuals per type of F1 female. Significance: $p < 0.001$: ***, $p > 0.05$: ns (Tukey's test).

Discussion

In the present study, we demonstrated that whitefly cytotype is a major determinant of both females' oviposition in no-choice experiments and oviposition behavior in choice experiments. On the other hand, we didn't find any influence of the insects' genotype. We acknowledge the possibility that these observations could result from genetic maternal effects, such as the mother transmitting epigenetic states such as DNA methylation, or supplying eggs with mRNA or proteins (English *et al.*, 2015). Apart from that, many other hidden players may underlie these observations, as whiteflies' cytotype shelters different entities, including the mitochondria, the P-symbiont and the S-symbionts. However, differences due to potential genetic and/or gene expression variability of the mitochondria or the P-symbiont between cytotypes seem unlikely. Indeed, the whitefly mitochondrial genome (15.632 base pairs) has a reduced gene content (37 genes, including 13 protein coding genes, 2 ribosomal RNAs and 22 transfer RNAs), mainly dedicated to cellular functions (*e.g.*, ATP production, apoptosis or cellular detoxification) (Wang *et al.*, 2013). Additionally, previous comparisons performed on the sequence concatenation of the 13 protein coding genes and the 2 ribosomal RNAs (12.595 base pairs) revealed low DNA divergence between Q1 and Q2 populations (0.15% to 1.09%) (Vyskočilová *et al.*, 2018). Similarly, analyses of the *Portiera*'s genome revealed similar genomic features and metabolic capabilities within the Q1 group (Santos-Garcia *et al.*, 2012; Rao *et al.*, 2015) and across the *B. tabaci* species complex (Zhu *et al.*, 2019; Santos-garcia *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2021). These analyses also revealed the loss of gene regulatory elements across the *B. tabaci* species complex (Zhu *et al.*, 2019). Most of all, Q1-HW and Q1-HR, presumably the closest cytotypes considering their mitochondrial genome and P-symbiont features, showed contrasting oviposition behavior, while Q1-HR and Q2-ARW were similar. Cytotypes also differ in their S-symbionts composition. Therefore, it is very likely that differences in traits and behaviors between cytotypes result from this composition. The overall effect of the cytotype on whitefly oviposition behavior may result as the net effect of the entire symbiotic community, or depend on the infection by a single S-symbiont species. Consistently with this second hypothesis, the avoidance/acceptance of lantana for oviposition can only be correlated to the absence/presence of the S-symbiont *Rickettsia*. Interestingly, *Rickettsia* was recently found to increase *B. tabaci* attraction towards tomato plants infected with the Tomato yellow leaf curl virus (Kliot *et al.*, 2019). supporting the hypothesis that symbionts may affect their host behavior.

In no-choice experiments, oviposition was lower on lantana compared to hibiscus. Lantana seems thus a less favorable host plant for *B. tabaci* compared to hibiscus, which can be partially explained by lower amounts of the essential amino acids (EAAs) isoleucine, leucine, phenylalanine and valine in this plant (Benhamou *et al.*, 2021). We also showed that oviposition differed between cytotypes on lantana while it was homogeneous on hibiscus, indicating that the influence of the cytotypes depends on the host plant species. Our results on lantana are consistent with our previous reports (Benhamou *et al.*, 2021): some cytotypes (Q1-HR and Q2-ARW) laid more eggs on lantana than others (Q1-HW), which could be due to the influence of the S-symbionts on their hosts' free amino acid (AA) metabolism (Benhamou *et al.*, 2021).

In choice experiments, females with cytotypes Q1-HW oviposited more frequently on hibiscus than on lantana, while females with cytotypes Q1-HR and Q2-ARW did not show plant preference. Behavioral changes associated to symbionts may be attributable to the host's adaptive response to symbiont infection or the direct modification by the symbiont of its host behavior. Here, the oviposition preference of females with cytotypes Q1-HW towards hibiscus could be an adaptive response of the whitefly driven by the lack of a cytotypes facilitating the utilization of lantana. Conversely, females with cytotypes Q1-HR and Q2-ARW, with no apparent plant preference, may be less selective considering their relatively advantageous cytotypes. Similar observations have been made in the olive fruit fly *B. oleae*, in which experimental manipulation of the gut bacterial consortium resulted in altered oviposition behavior. Uninfected *B. oleae* showed less frequent oviposition on fruits, which may benefit the insect by avoiding oviposition on food sources that are difficult to use in the absence of the symbionts (Jose *et al.*, 2019). It cannot be completely excluded that these observations are not an adaptive response of the host to S-symbionts infection. Indeed, the fact that half of the individuals of the cytotypes Q1-HR and Q2-ARW made non-optimal choice by choosing lantana could be due to symbiont behavioral manipulation (driven by the symbiont benefit). However, the presumed benefit for the symbiont remains elusive. We didn't detect any influence of the genotype, which suggests that there is no nuclear genetic variation in the host response to the presence/absence of S-symbionts, contrary to what was previously described in the close relative *B. tabaci* MEAM1 (Middle East Asia Minor 1) species, in which the host nuclear genotype conditions the fitness benefits associated to the infection by the S-symbiont *Rickettsia* (Hunter *et al.*, 2017).

Mechanisms by which S-symbionts may influence *B. tabaci* oviposition behavior are unknown to date. Studies on a broad spectrum of microorganisms suggest that symbionts may influence their host behavior directly, through the production of a microbial signal (*e.g.* some EAAs) able to interact with their hosts' neurons or sensory organs or that are precursors of neurotransmitters (Shropshire and Bordenstein, 2016; Lynch and Hsiao, 2019). Symbionts could also influence their host behavior indirectly, through their effects on host physiological functions (*e.g.*, metabolism, immunity, endocrine system and pheromone production) that ultimately influence the host nervous system (Shropshire and Bordenstein, 2016; Engl and Kaltenpoth, 2018; Lynch and Hsiao, 2019). In *D. melanogaster* deprived of their gut bacteria, feeding on a diet depleted in EAAs elicits preference for AA-rich food, while this behavior can be rescued in flies inoculated with gut bacteria (Leitão-Gonçalves *et al.*, 2017). Therefore, it was proposed that flies are able to detect changes in their inner free EAA concentrations, modulating their preference for AA-rich food. It was also proposed that *D. melanogaster* gut bacteria could provide their host with EAAs, thereby modulating the nutritional status and subsequent food preference for this insect (Leitão-Gonçalves *et al.*, 2017). Similarly, S-symbionts may influence *B. tabaci* oviposition behavior through their impact on their hosts' amino acid metabolism and nutritional status (Rao *et al.*, 2015; Opatovsky *et al.*, 2018; Ren *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020; Benhamou *et al.*, 2021). According to this hypothesis, the apparent increased production of EAAs previously reported associated to Q1-HR and Q2-ARW cytotypes may explain why they show no preference between plants with high (*i.e.* hibiscus) and low (*i.e.* lantana) amounts of these specific EAAs. Conversely, the lower level of EAAs production in Q1-HW females may elicit preference for hibiscus. However, the mechanisms by which insect could detect changes in internal free EAAs availability and subsequent changes in behavior are not known.

In conclusion, this work shows that the host plant choice of *B. tabaci* for oviposition is determined by the insect cytotype, most likely by the S-symbionts community. Whether these effects depend on single or multiple S-symbiont species is unknown to date, and further studies should investigate the respective contribution of each S-symbiont to the host behavior. In this perspective, recent studies have made encouraging advances in manipulating *B. tabaci* symbiotic community by selectively eliminating S-symbionts using heat (Shan *et al.*, 2019) or antibiotic treatments (*e.g.* Shan *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2019). Mechanisms by which S-symbionts mediate the insect behavior remains also to be determined. Future investigations will help in dissecting the molecular bases of whitefly behavior to accurately determine the influence of S-symbionts during each of the host plant selection step (*e.g.*, olfaction, probing).

Further work should explore additional cytotype and plant combinations to determine to which extent S-symbionts can mediate their hosts' suitable plant range. Such directions would help to better assess the potential role of symbionts in *B. tabaci* species complex ecological diversification.

Acknowledgements and funding statement

This work was supported by the Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE); INSA (Institut National des Sciences Appliquées) Lyon; the Scientific Breakthrough project Micro-be-have (Microbial impact on insect behavior) of Université de Lyon, within the programme 'Investissements d'Avenir' (ANR-11-IDEX-0007; ANR-16-IDEX-0005), which also awarded S.B. PhD fellowship; and the French National Research Agency Program Grant ANR-16-CEA02-0014 HMicMac (Host-microbiota co-adaptations, mechanisms and consequences). The funders had no role in study design, data collection, analysis and interpretation, decision to submit the work for publication, or preparation of the manuscript.

Supplemental material

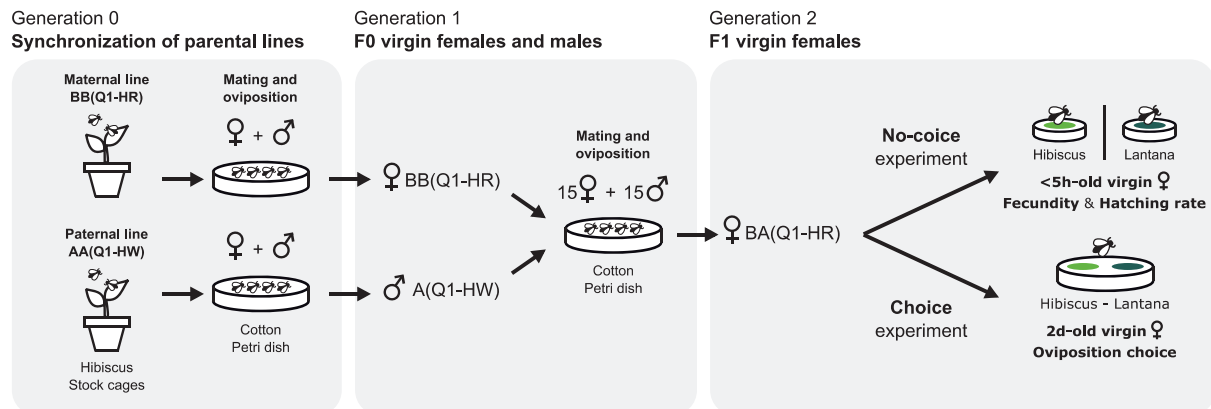


Figure S1. Experimental procedure used for no-choice and choice experiments on F1 females, using BA(Q1-HR) F1 females as an example. All experiments were performed on individual F1 females. Oviposition choice was assessed by counting the number of eggs laid per female after 32 h on each plant (n=31-27). Fecundity (number of eggs laid) was assessed over 7 days per F1 female after which the female was removed from the Petri dish. The hatching rate was calculated as the ratio of larvae (observed 10 days after removing the female), over the total number of eggs laid per F1 female (see formula (a) from main text) (n=13-17).

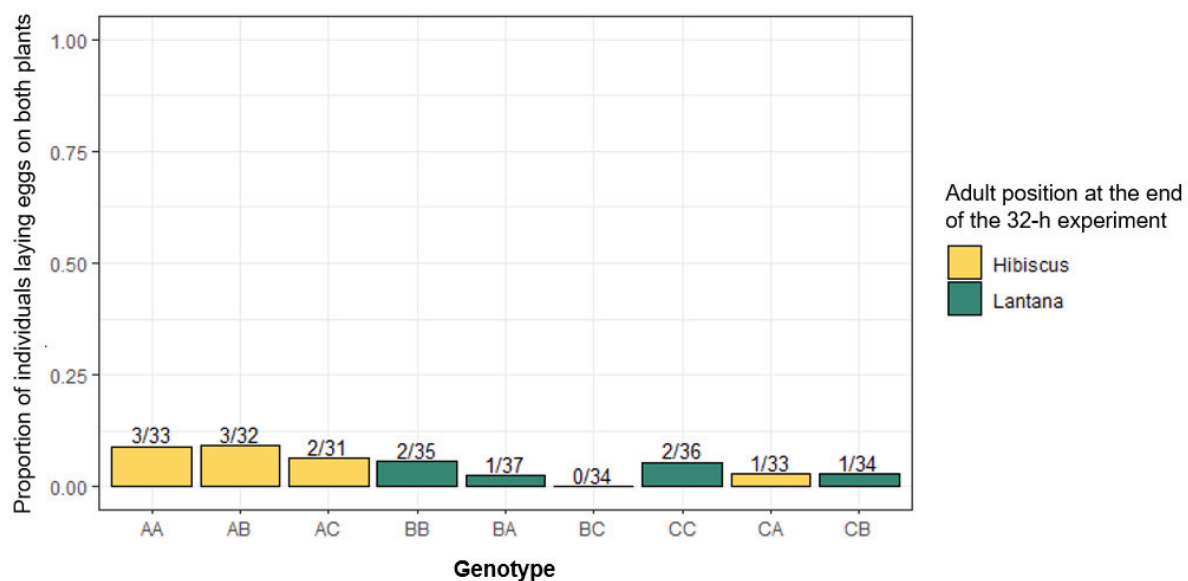


Figure S2. Proportion of *B. tabaci* females laying eggs on both hibiscus and lantana according to their genotype in a choice experiment. Most of females laid eggs on a single plant species. Colors indicate the female's position at the end of the experiment. Numbers above bars indicate absolute values (number of females laying eggs on both plants / total number of females analyzed).

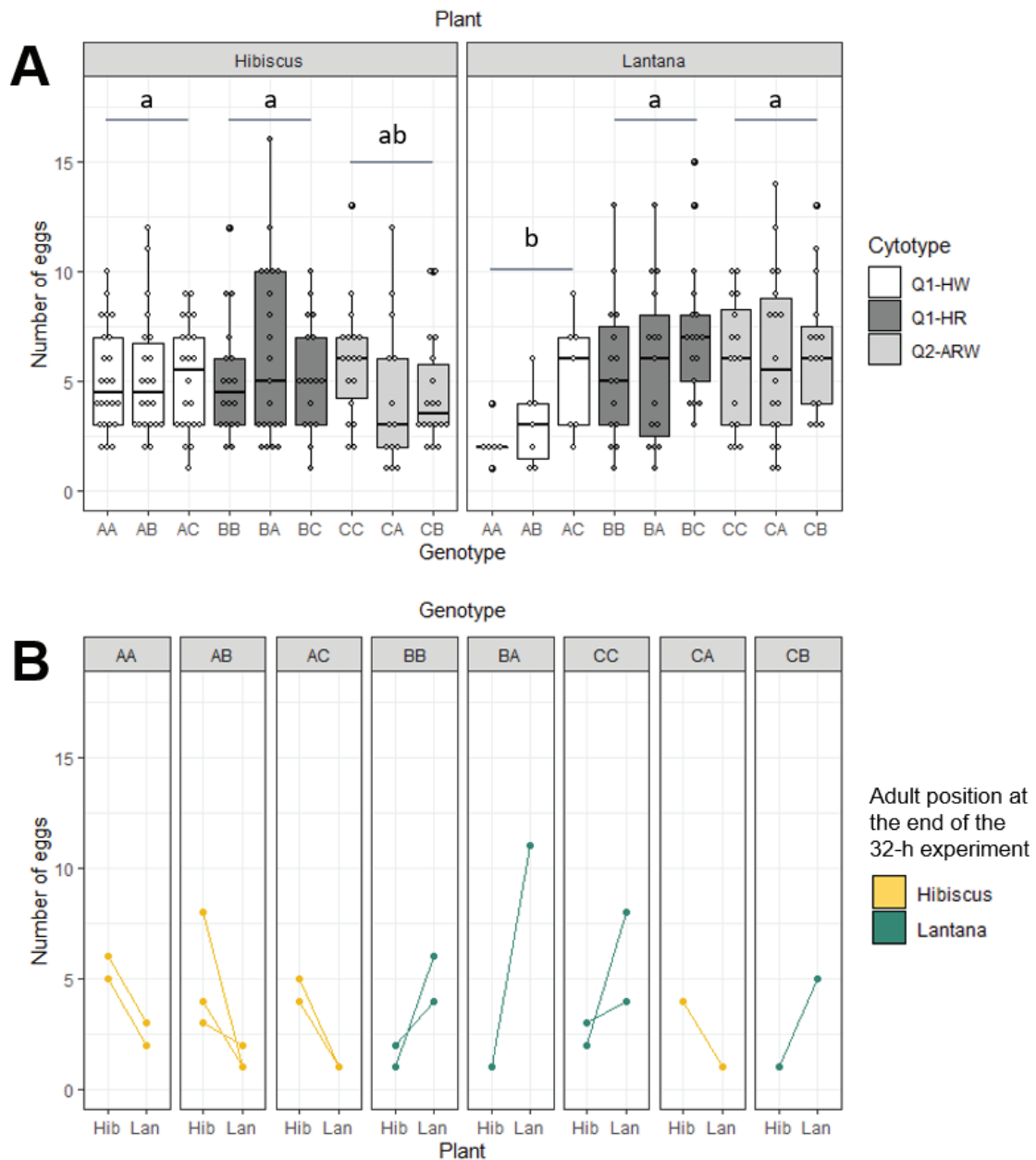


Figure S3. Whitefly oviposition in hibiscus vs lantana choice experiments according to their cytotype and genotype. (A) Number of eggs laid by whiteflies laying eggs exclusively on hibiscus (left panel) or lantana (right panel). Each dot represents one measure for one female; box length represents the interquartile range; whiskers indicate the lowest and largest data points, excluding outliers. Black horizontal bars correspond to the median. The amount of eggs laid on hibiscus or lantana according to females cytotype and genotype was analyzed using a GLM (with a negative binomial error structure) (effect of the interaction between the plant species and the insect cytotype: $\chi^2(2) = 11.72, P = 0.0028$; effect of the insect's nuclear genotype : $\chi^2(6) = 3.62, P = 0.73$). To decipher the plant x cytotype interaction, letters above the boxes indicate statistical groups determined by Tukey's multiple comparison test ($P < 0.05$). **(B)** Number of eggs laid by whiteflies ovipositing on both plants. Each panel corresponds to a genotype, there was no data for genotype BC, as no female oviposited on both plants (**Fig. S1**). Each dot pair corresponds to an individual female's oviposition on hibiscus (Hib) and lantana

(Lan). Colors indicate the female's position at the end of the experiment. Measures were performed on individual F1 females obtained from crosses of laboratory lines: AA(Q1-HW), BB(Q1-HR), or CC(Q2-ARW). F1 female legend: Nuclear genotype: letters indicate the maternally (first) and the paternally (second) inherited nuclear genotype; Cytotype: mitochondrial group + S-symbionts (A: *Arsenophonus*, H: *Hamiltonella*, R: *Rickettsia*, W: *Wolbachia*).

Influence des symbiotes secondaires sur les capacités métaboliques de *Bemisia tabaci*

Sylvain Benhamou ^{a,b},
Océane Chanel ^a,
Gabrielle Duport ^c,
Hélène Henri ^a,
Isabelle Rahioui ^b,
Pedro Da Silva ^b,
Abdelaziz Heddi ^b,
Fabrice Vavre ^a,
Emmanuel Desouhant ^a,
Federica Calevro ^c,
Laurence Mouton ^a,

^aUniversité de Lyon, Université Lyon 1, CNRS, VetAgro Sup, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, UMR 5558, F-69622 Villeurbanne, France

^bUniv Lyon, INRAE, INSA Lyon, BF2I, UMR 203, 69621 Villeurbanne, France

^cUniv Lyon, INSA Lyon, INRAE, BF2I, UMR 203, 69621 Villeurbanne, France

1. Avant-propos

Dans les précédents chapitres, nous avons montré que le cytotype (le compartiment cytoplasmique d'un individu, comprenant ses symbiotes et ses mitochondries) influence la capacité de *B. tabaci* à exploiter les plantes (**Chapitre 1**), mais aussi son choix de plante pour la ponte (**Chapitre 2**). Les différents cytotypes étudiés dans cette thèse se différenciant par la composition de leur cortège de symbiotes secondaires, nous avons émis l'hypothèse que ces symbiotes pourraient influencer la gamme de plantes hôtes de *B. tabaci*, potentiellement à travers leur impact sur le métabolisme des acides aminés de l'insecte.

Cette hypothèse a été bâtie sur la base de l'analyse comparative des génomes de *Portiera* et des symbiotes secondaires de *B. tabaci*, qui suggère que certains de ces derniers pourraient contribuer à la biosynthèse d'acides aminés essentiels, en complétant les voies de métaboliques présentes chez le symbiote primaire (**Figure 13**). Plus particulièrement, le symbiote secondaire *Rickettsia* a conservé le gène *ilvE*, codant pour l'enzyme réalisant la réaction finale de la voie de biosynthèse de l'isoleucine, de la leucine et de la valine (ILV), absent du génome de *Portiera* (Chen *et al.*, 2016) (**Figure 13A**). Ce gène est également absent des génomes des symbiotes secondaires *Arsenophonus* (Zhu *et al.*, 2021), *Hamiltonella* (Rao *et al.*, 2015) et *Wolbachia* (Zhu *et al.*, 2021) (**Figure 13A**). Similairement, *Hamiltonella* a conservé les gènes de la voie de biosynthèse de la lysine *dapB*, *dapF* et *lysA*, manquants ou étant non fonctionnels chez *Portiera* (Rao *et al.*, 2015) (**Figure 13B**). Les gènes *dapB* et *dapF*, mais pas *lysA*, sont également présents dans les génomes d'*Arsenophonus* (Zhu *et al.*, 2021), de *Rickettsia* (Chen *et al.*, 2016) et de *Wolbachia* (Zhu *et al.*, 2021) (**Figure 13B**). Ainsi, contrairement à *Hamiltonella*, ces trois symbiotes secondaires ne peuvent pas totalement compléter la voie de biosynthèse de la lysine de *Portiera*, qui nécessiterait l'intervention du gène *lysA* de l'hôte. En effet, il est important de noter que les gènes *dapB*, *dapF* et *lysA* sont également présents dans le génome de *B. tabaci*, qui les aurait acquis par transfert horizontal (HTG ; *Horizontally transferred gene*) (Luan *et al.*, 2015) (**Figure 13B**). *B. tabaci* possède également le gène eucaryote *BCAT*, susceptible d'assurer la même fonction que le gène *ilvE* (Chen *et al.*, 2016) (**Figure 13A**).

Récemment, Bao et collaborateurs (Bao *et al.*, 2021) ont montré que l'élimination d'*Hamiltonella* par traitement antibiotique n'a pas d'impact sur la quantité de lysine libre dans le corps de *B. tabaci* MEAM1, ni sur la densité symbiotique de *Portiera* et *Rickettsia*, ni sur l'expression des gènes impliqués dans la voie de biosynthèse de la lysine chez l'hôte et ses symbiotes. De plus, les auteurs ont démontré que les gènes HTG *dapB*, *dapF* et *lysA* de *B.*

tabaci sont fonctionnels par des expériences de complémentation fonctionnelle de mutants *knockout Escherichia coli* pour ces trois gènes. Par ailleurs, l’extinction de l’expression du gène *lysA* par ARN interférence entraîne une réduction de la quantité de lysine libre dans le corps de l’insecte et de la densité de *Portiera* et de *Rickettsia*. Au contraire, elle n’affecte pas l’expression du gène *lysA* d’*Hamiltonella* (la faible identité de séquence nucléotidique du gène *lysA* entre *B. tabaci* MEAM1 et *Hamiltonella*, 35,27%, permet une extinction ciblée de l’expression du gène de l’insecte), ni la densité de ce symbiote. Ensemble, ces résultats suggèrent qu’*Hamiltonella* ne synthétise pas la lysine ou n’en synthétise qu’une faible quantité pour ses propres bénéfiques. Ces résultats indiquent également que la biosynthèse de la lysine disponible pour l’holobionte, est réalisée par la collaboration des gènes de l’hôte, de *Portiera* et de *Rickettsia* (Bao *et al.*, 2021). En ce qui concerne la biosynthèse des ILV, on ne sait pas encore si les gènes de l’hôte (*BCAT*) ou de *Rickettsia* (*ilvE*) sont entièrement fonctionnels, ni si et comment ils sont régulés. Ainsi, il est possible que lors d’une carence nutritionnelle en ILV ou en lysine, les gènes issus de *Rickettsia* ou de l’hôte puissent compléter les voies de biosynthèse de *Portiera*. Toutefois, les contributions respectives des symbiotes secondaires et/ou de l’hôte à la biosynthèse de ces métabolites ne sont pas encore totalement élucidées

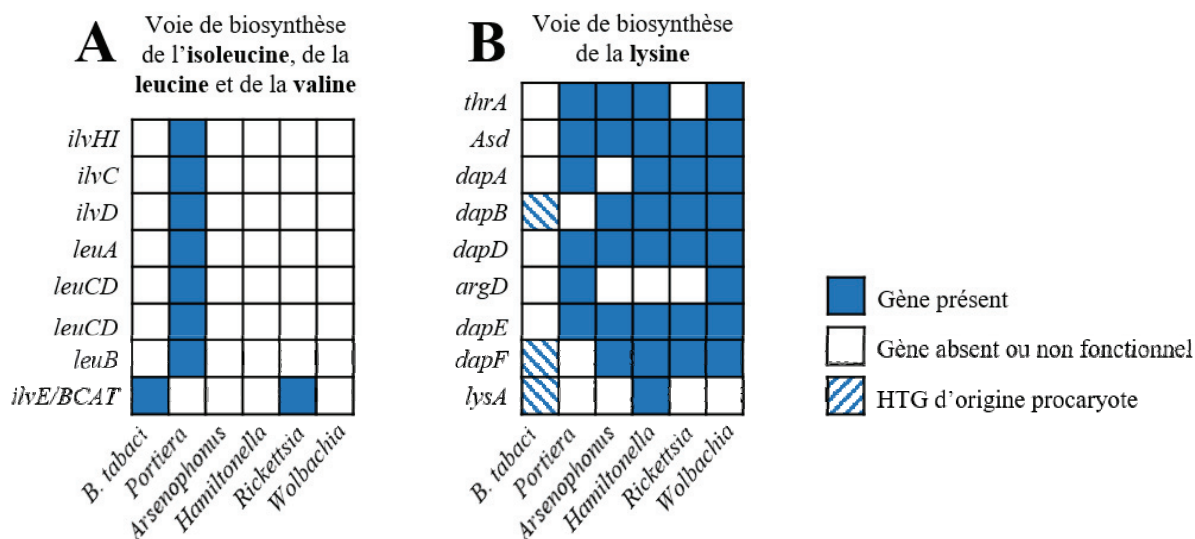


Figure 13. Contenu génique de *B. tabaci* et de ses symbiotes pour les voies de biosynthèse des acides aminés essentiels isoleucine, leucine, valine et lysine. (A) Voie de biosynthèse des acides aminés branchés, l’isoleucine, la leucine et la valine ; (B) Voie de biosynthèse de la lysine. Chaque carré correspond à un gène (ou à deux gènes correspondant à une seule activité enzymatique comme dans le cas du couple *ilvH et ilvI*), les différents gènes sont ordonnés de haut en bas dans l’ordre d’intervention dans la voie de biosynthèse. HTG : *Horizontally transferred gene*, gène acquis par transfert horizontal.

Afin de mieux comprendre le rôle des acides aminés ILV et lysine sur la physiologie de l'holobionte, dans la première partie de ce chapitre, nous avons (i) analysé la conséquence de carences nutritionnelles en ILV ou en lysine sur les traits phénotypiques de *B. tabaci*, et (ii) déterminé si et comment les symbiotes secondaires influencent les traits d'histoire de vie de leurs hôtes face à ces carences. Pour cela, nous avons élevé des femelles *B. tabaci* associées à différents cortèges de symbiotes secondaires sur des milieux nutritifs artificiels carencés en ILV ou en lysine, et analysé leur survie et leur capacité à produire des œufs dans ces différentes conditions nutritives. Chez *B. tabaci*, peu d'études ont été menées sur des milieux dont la composition en acides aminés est contrôlée. Les expériences présentées dans ce chapitre ont pu être réalisées grâce au milieu « Ap3 » (*Acyrtosiphon pisum* 3, Febvay *et al.*, 1987), développé par le laboratoire BF2i pour le puceron du pois *A. pisum*, un hémiptère phloémophage physiologiquement proche de *B. tabaci*. Le milieu Ap3 est un milieu dit 'complet' : il contient des acides aminés des vitamines, des minéraux et des sucres. Sa composition est strictement contrôlée, ce qui signifie qu'il est possible d'en élaborer des versions carencées en nutriments spécifiques. Ce travail a notamment été réalisé par Océane Chanel, que j'ai co-encadré lors de son stage de Master 1 au laboratoire (Master Biodiversité, Écologie, Évolution, Lyon 1, Avril-Mai 2021).

Dans la seconde partie de ce chapitre, nous avons voulu optimiser le milieu Ap3 pour l'élevage de *B. tabaci*. Pour cela, nous avons élaboré le milieu « Bt1 » (*Bemisia tabaci* 1), dont la composition en acides aminés est dérivée du profil en acides aminés totaux de *B. tabaci*, déterminé par analyse HPLC. Nous avons analysé la survie et la capacité de *B. tabaci* à produire des œufs sur le milieu Bt1 et comparé ces résultats à des données obtenues sur le milieu Ap3 ou sur l'hibiscus, une plante choisie en tant que référence de régime alimentaire particulièrement favorable à l'élevage de *B. tabaci* (Benhamou *et al.*, 2021).

2. Matériels et méthodes

2.1. Lignées

Dans ce chapitre, nous avons utilisé trois lignées de *B. tabaci* contenant différentes compositions de symbiotes secondaires, appartenant aux groupes Q1 ou Q2 de l'espèce Méditerranéenne (MED) (**Tableau 7**). Ces lignées ont été maintenues en cages d'élevage sur plant d'hibiscus en conditions climatiques contrôlées en termes de photopériode [lumière(h)/obscurité(h) : 14/10], d'humidité relative (70%), et de température (25°C). Les croisements entre lignées et toutes les expériences ont été réalisés dans ces mêmes conditions.

Tableau 7. Lignées de *B. tabaci* utilisées dans cette étude.

Lignée	Génotype nucléaire	Cytotype		Informations de collecte		
		Groupe mitochondrial	Symbiotes secondaires ^a	Année	Localité (Pays)	Plante
AA(Q1-HW)	AA	Q1	HW	2012	Tympaki (Grèce)	Aubergine <i>Solanum</i> sp.
BB(Q1-HR)	BB	Q1	HR	2012	Les Ponts-de-Cé (France)	Mandevilla <i>Mandevilla</i> sp.
CC(Q2-ARW)	CC	Q2	ARW	2018	Lyon (France)	Lantana <i>Lantana camara</i>

^a A: *Arsenophonus*, H: *Hamiltonella*, R: *Rickettsia*, W: *Wolbachia*.

2.2. Production des femelles F1 pour les mesures phénotypiques sur les milieux Ap3 carencés en acides aminés

Afin d'étudier l'influence des symbiotes secondaires sur les traits phénotypiques de femelles *B. tabaci* élevées sur des milieux carencés en ILV ou en lysine, nous nous sommes focalisés sur deux lignées, AA(Q1-HW) et CC(Q2-ARW), soit une lignée infectée par *Hamiltonella*, mais pas par *Rickettsia*, et une lignée infectée par *Rickettsia*, mais pas par *Hamiltonella*. De manière à s'affranchir d'une potentielle influence du génotype nucléaire sur les traits phénotypiques de *B. tabaci*, nous avons réalisé des croisements réciproques entre ces deux lignées. Ces croisements ont produit des femelles F1 hybrides AC(Q1-HW) et CA(Q2-ARW), partageant le même génotype hybride (AC et CA), mais associées à des cytotypes différents (Q1-HW ou Q2-ARW) (**Tableau 8**). Nous avons également fait des croisements intra-lignées pour servir de contrôle des lignées parentales AA(Q1-HW) et CC(Q2-ARW) (**Tableau 8**).

Tableau 8. Génotype nucléaire et cytotype des femelles F1 *B. tabaci* ^a.

		Mère (F0)	
		AA(Q1-HW)	CC(Q2-ARW)
Père (F0) ^b	A(Q1-HW)	AA(Q1-HW)	CA(Q2-ARW)
	C(Q2-ARW)	AC(Q1-HW)	CC(Q2-ARW)

^a Identification des femelles F1: Génotype Nucléaire(Cytype); Génotype nucléaire: la première lettre indique le génotype nucléaire hérité de la mère, la seconde lettre identique le génotype nucléaire hérité du père ; Cytype : groupe mitochondrial + symbiotes secondaires ; symbiotes secondaires : A : *Arsenophonus*; H : *Hamiltonella* ; R : *Rickettsia* ; W : *Wolbachia*.

^b Le génotype des pères F0 (A ou C) n'est indiqué que par une seule lettre étant donné que les mâles *B. tabaci* sont haploïdes.

Pour cela, nous avons suivi la procédure développée dans le premier chapitre de ce manuscrit (**Chapitre 1**, Benhamou *et al.*, 2021) (protocole expérimental : **Figure 14**). Brièvement, des mâles et des femelles des deux lignées parentales élevés sur hibiscus ont été transférés sur disque foliaire d'hibiscus en boîte de Petri (2% Agar) pour s'y accoupler et pondre pendant une semaine. Le développement des larves a été suivi quotidiennement de manière à collecter des mâles et des femelles adultes (F0) vierges (< 5h après l'émergence). Les croisements, pour produire les femelles F1, ont été effectués en boîte de Petri sur disque foliaire d'hibiscus, en regroupant 15 mâles et 15 femelles F0 pendant une semaine pour qu'ils s'y accouplent et pondent.

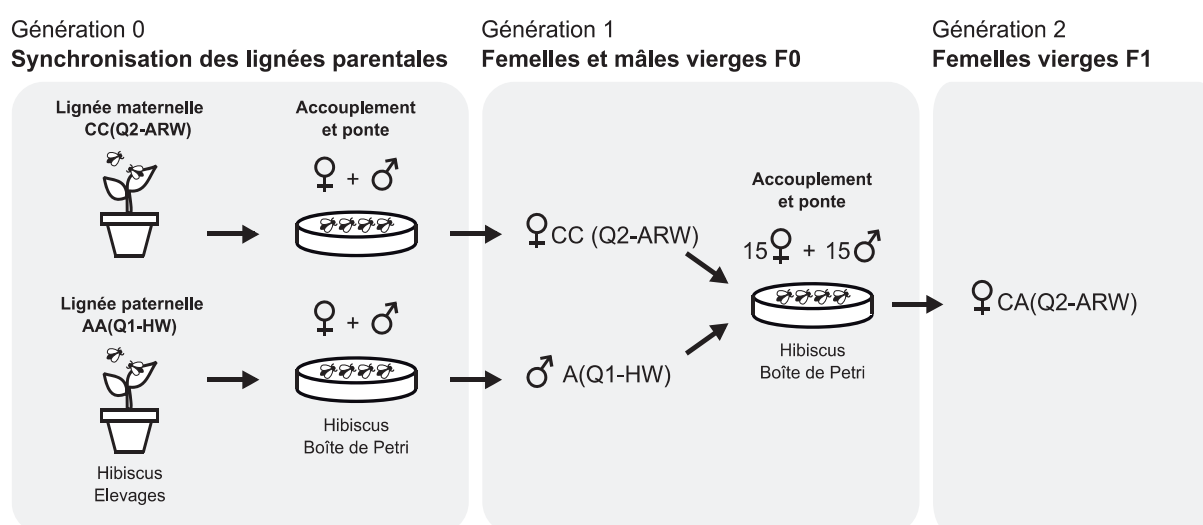


Figure 14. Procédure expérimentale utilisée pour la production de femelles hybrides F1. Un exemple est présenté, celui de l'obtention des femelles F1 CA(Q2-ARW).

2.3. Milieux nutritifs artificiels

2.3.1. Milieu Ap3 complet et carencé en acides aminés, en ILV, ou en lysine

Le milieu Ap3 est un milieu nutritionnel artificiel initialement optimisé pour l'élevage du puceron du pois *A. pisum* (Febvay *et al.*, 1987), puis adapté à l'élevage d'un autre hémiptère phloémophage, *Phenacoccus manihoti*, la cochenille du manioc (Calatayud et Rahbé, 1998; Calatayud, 2000). Il a été depuis utilisé pour l'élevage d'un grand nombre d'insectes hémiptères phloémophages (plus de 300 références trouvées dans le moteur de recherche *Google Scholar* avec les mots-clefs : [(insect* OR aphid*) AND ("Ap3" AND "Diet")]). La composition du milieu Ap3 est contrôlée : il contient du saccharose en grande quantité, de manière à mimer la sève phloémienne des plantes, des vitamines et sels minéraux en traces, et les 20 acides aminés protéinogènes (**Tableau 9**). La particularité du milieu Ap3 est que sa composition en acides aminés est inspirée de la composition en acides aminés totaux du puceron du pois *A. pisum*, c'est-à-dire, la somme de tous les acides aminés présents dans le corps du puceron (acides aminés sous forme libre, peptidique et protéique). Cette spécificité a permis d'améliorer le développement d'*A. pisum* sur milieu artificiel en comparaison à des milieux artificiels précédemment utilisés (Febvay *et al.*, 1987), qui étaient inspirés à la composition de la sève phloémienne des plantes. A partir de ce milieu, nous avons produits les milieux Ap3ILV⁻ et Ap3Lys⁻, carencés respectivement en ILV ou lysine. Nous nous sommes focalisés sur ces acides aminés essentiels car l'analyse du génome des symbiotes secondaires de *B. tabaci* suggère que certains d'entre eux pourraient contribuer à la biosynthèse de ces nutriments, en complétant les voies de biosynthèse de *Portiera*. Nous avons également élaboré un troisième milieu, sans aucun acide aminé (Ap3AA⁻), de manière à pouvoir différencier l'effet du retrait d'(un) acide(s) aminé(s) spécifique(s) (lysine ou ILV), du retrait de tous les acides aminés.

Tableau 9. Composition du milieu nutritif artificiel complet Ap3.

Acides aminés essentiels	Quantité (mmol/L)	Acides aminés non essentiels	Quantité (mmol/L)	Vitamines	Quantité (mg/100mL)	Minéraux et autres	Quantité (mg/100mL)
Arginine	14,06	Alanine	20,06	Acide Folique	1	CuSO4 5H2O	0,47
Histidine	6,49	Alanine-β	0,7	Acide L-Ascorbique	100	FeCl3 6H2O	4,45
Isoleucine	12,56	Asparagine	19,88	Acide p-Aminobenzoïque	10	MnCl2 4H2O	0,65
Leucine	17,65	Aspartate	6,63	Nicotinamide	10	NaCl	2,54
Lysine	19,22	Cystéine	2,44	Biotine	0,10	ZnCl2	0,83
Méthionine	4,85	Glutamate	10,15	Chlorure de Choline	50	Citrate de Calcium	10
Phénylalanine	17,83	Glutamine	30,49	Panthothénate de Calcium	5	Benzoate de Cholestérol	2,5
Thréonine	10,67	Glycine	22,19	Inositol anhydre	42	MgSO4 7H2O	242
Tryptophane	2,09	Ornithine	0,56	Pyridoxine hydrochloride	2,50	KH2PO4	250
Valine	16,29	Proline	11,23	Riboflavine	0,50	Saccharose	20 000
		Sérine	11,83	Thiamine hydrochloride	2,50	Eau déionisée	100 000
		Tyrosine	2,13				

2.3.2. Élaboration du milieu Bt1

Afin d'élaborer un milieu artificiel optimisé pour l'élevage de *B. tabaci* nous avons adopté la stratégie employée par Febvay et ses collaborateurs pour le développement du milieu Ap3 (Febvay *et al.*, 1987). Pour cela, nous avons analysé, par HPLC, le profil en acides aminés totaux de *B. tabaci*, et utilisé ces données pour élaborer le milieu Bt1. Pour tenir compte d'éventuelles variations dans le profil en acides aminés totaux entre lignées de *B. tabaci*, nous nous sommes basés sur le profil moyen des trois lignées AA(Q1-HW), BB(Q1-HR) et CC(Q2-ARW) (**Tableau 7**).

Extraction des acides aminés totaux

Pour chacune de ces trois lignées, les acides aminés totaux ont été extraits à partir de 3 groupes de 5 femelles collectées sur disque foliaire d'hibiscus 7 jours après l'émergence, en utilisant le protocole développé dans la première partie de ma thèse (Benhamou *et al.*, 2021). Les échantillons ont été broyés mécaniquement (TissueLyser, Qiagen, Hilden, Germany) avec des billes en acier (1,4mm) pendant 1 min à 20Hz dans 200 µL d'eau ultra-pure avec 5 nmol de norvaline utilisée en tant que standard interne. Cinquante microlitres de cet homogénat brut ont été hydrolysés sous vide (22h, 115°C) avec 200µL de solution HCl 6N + 5% (w/v) phénol, puis séchés sous vide. Les échantillons ont été stockés à -20°C puis homogénéisés dans 100µL d'eau ultra-pure pour l'analyse.

Analyse HPLC du profil en acides aminés totaux de *B. tabaci*

La quantification des acides aminés totaux a été réalisée par analyse HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*, Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance) (Agilent 1100 ; Agilent Technologies) avec une cartouche de garde et une colonne C18 en phase inverse (Zorbac Eclipse-AAA 3,5 μ m, 150 x 4,6mm, Agilent Technologies), d'après la procédure spécifiquement développée pour ce système (Henderson *et al.*, 2000) et adaptée par la suite aux tissus de pucerons (Rabatel *et al.*, 2013; Simonet *et al.*, 2016). Le processus de dérivatisation, à température ambiante, a été automatisé à l'aide de l'échantillonneur automatique Agilent 1313A. La détection a été réalisée par un détecteur de fluorescence réglé à 340nm de longueur d'ondes d'excitation, et 450 nm de longueur d'ondes d'émission (266/305nm pour la proline). Dans ces conditions, les réactions d'oxydation de la cystéine peuvent conduire à plusieurs formes de cet acide aminé qui ne permet pas sa détection et sa quantification précise. Par ailleurs, l'étape d'hydrolyse lors de l'extraction des acides aminés protéiques entraîne l'hydrolyse de l'asparagine (Asp) en aspartate (Asp) et de la glutamine en (Gln) en glutamate (Glu). Ces acides aminés sont alors détectés sous un signal commun Asx (Asp+Asn) et Glx (Gln+Glu). Enfin, l'étape d'hydrolyse entraîne une dégradation du tryptophane, qui ne peut pas être détecté par cette méthode. Ainsi, seuls 16 acides aminés ont été quantifiés. Le facteur de réponse de chaque acide aminé a été déterminé en utilisant un mélange standard de 250 μ M d'acides aminés. Ces analyses ont été réalisées avec le logiciel ChemStation pour LC 3D Systems.

Composition en acides aminés du milieu Bt1

La composition en acides aminés du milieu nutritif artificiel Bt1 a été déterminée de manière à conserver la concentration molaire totale en acides aminés du milieu Ap3 (260 mM), mais avec une répartition des acides aminés différente, dérivée du profil en acides aminés totaux moyen de *B. tabaci*. Les concentrations molaires de l'alanine- β (0,70mM), de la cystéine (2,44mM), de l'ornithine (0,56mM) et du tryptophane (2,09mM) n'ont pas été modifiées. En effet, l'alanine- β , la cystéine et le tryptophane ne sont pas détectables par notre méthode d'analyse, et l'ornithine est un acide aminé synthétique naturellement absent du corps de l'insecte. La concentration molaire totale restante (254,21mM) a été répartie entre chaque acide aminé individuel d'après leur proportion relative dans le corps de *B. tabaci*. Notre méthode d'analyse n'ayant pas permis de déterminer le contenu individuel d'Asn, d'Asp, de Gln et de Glu chez *B. tabaci*, nous avons conservé les ratios Asn : Asp (3,00) et Gln : Glu (3,00) du milieu

Ap3. Ces ratios ont été appliqués aux concentrations molaires d'Asx (23,38mM) et de Glx (35,66mM) du milieu Bt1 pour en déduire les parts d'Asn (17,53mM), d'Asp (5,85mM), de Gln (26,75mM) et de Glu (8,91mM).

2.4. Mesures phénotypiques sur les milieux nutritifs artificiels

Le système expérimental utilisé pour les mesures phénotypiques sur les milieux artificiels se compose du couvercle et du fond d'une boîte de Petri (diamètre : 55mm) (**Figure 15**). Le couvercle est percé d'une ouverture circulaire (diamètre : 25mm) (**Figure 15A**). Cette ouverture est recouverte d'une première couche de Parafilm® (**Figure 15B**), sur laquelle est déposé 80µL de milieu artificiel (**Figure 15C**). Ensuite, une seconde couche de Parafilm® est étirée sur la première de manière à créer une poche hermétique contenant la solution nutritive (**Figure 15D-E**). L'ensemble du matériel (boîte de Petri et Parafilm®) est traité aux UV et le système est assemblé en conditions stériles. Ce dispositif mime la structure d'une feuille renfermant le phloème entre deux couches de tissu végétal. L'insecte se nourrit par succion à travers le Parafilm® à l'aide de ses pièces buccales (stylet) (**Figure 15F-G**).

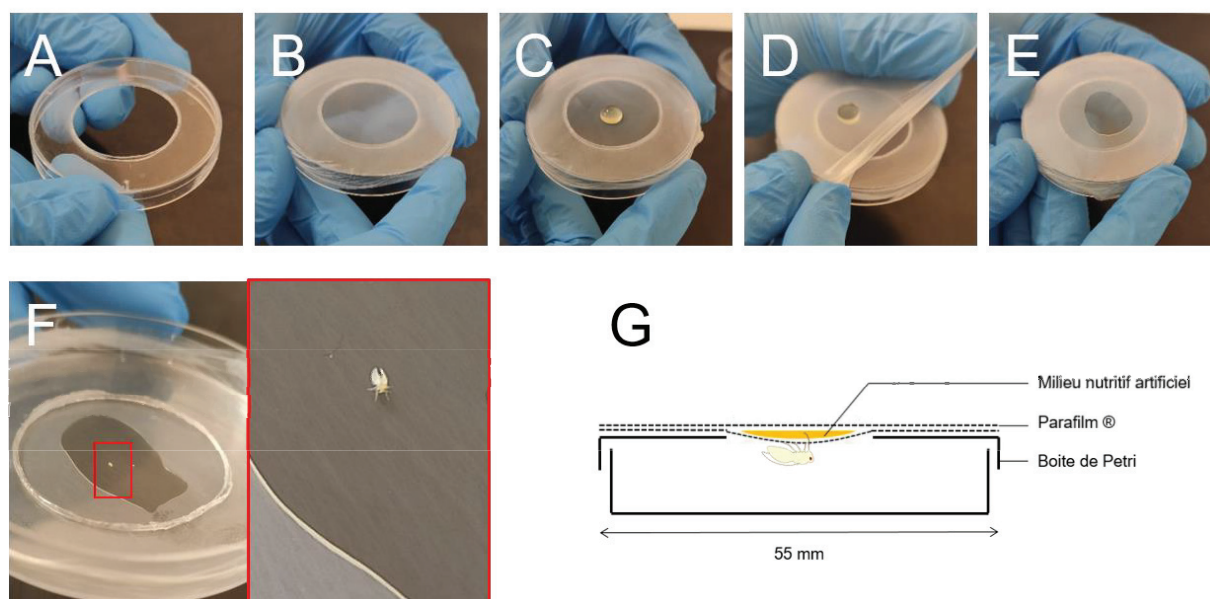


Figure 15. Dispositif expérimental utilisé pour les mesures phénotypiques sur les milieux nutritifs artificiels. Les insectes sont placés dans un système clos où ils peuvent se nourrir d'un milieu nutritif artificiel liquide scellé entre deux couches de Parafilm®. (A-E) Assemblage du dispositif expérimental ; (F) *B. tabaci* s'alimentant sur milieu artificiel ; (G) schéma du dispositif expérimental.

La survie de *B. tabaci* et sa capacité à produire des œufs sur les milieux nutritifs artificiels Ap3, Ap3AA⁻, Ap3ILV⁻ et Ap3Lys⁻ ont été analysées chez les femelles F1 AA(Q1-HW), AC(Q1-HW), CA(Q2-ARW) et CC(Q2-ARW) (**Tableau 8**). Ces mêmes mesures ont été réalisées sur les milieux Bt1 et Ap3 ainsi que sur l'hibiscus, mais en se focalisant sur la lignée CC(Q2-ARW) (**Tableau 7**). Pour toutes ces mesures, des femelles vierges (<5h après l'émergence) élevées sur hibiscus en boîte de Petri ont été collectées et placées individuellement sur un milieu artificiel ou sur un nouveau disque foliaire d'hibiscus. Ces femelles ont ensuite été séparées en deux lots. La survie des femelles du premier lot a été contrôlée quotidiennement jusqu'à la mort de tous les individus. Les milieux artificiels et les disques foliaires ont été renouvelés tous les 7 jours (8 à 16 répétitions par modalité). Les œufs pondus par les femelles du second lot ont été dénombrés sous une loupe binoculaire 7 jours après le début de l'expérience. Ces mêmes femelles ont ensuite été disséquées (**Figure 16A**) dans une solution de PBS (phosphate-buffered saline) pour déterminer le nombre d'œufs contenus dans leur abdomen (**Figure 16B**), et calculer le nombre total d'œufs produits par femelle (nombre d'œufs pondus + nombre d'œufs contenus dans l'abdomen) (5 à 20 répétitions par modalité).

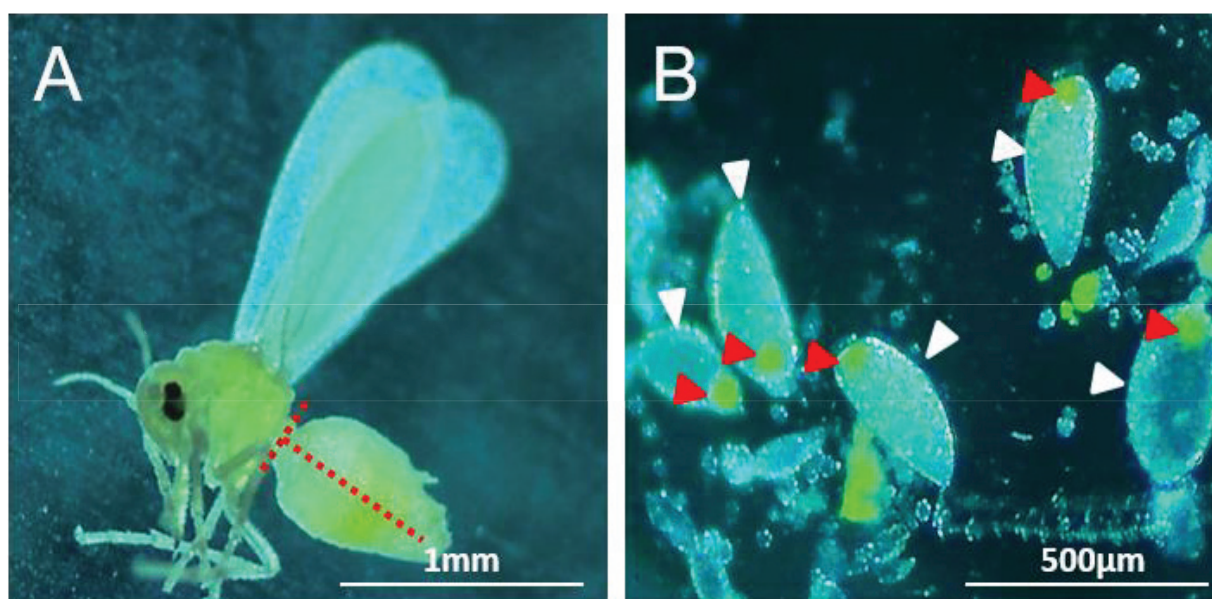


Figure 16. Dissection d'une femelle *B. tabaci*. (A) L'abdomen est séparé du thorax et est ouvert dans sa longueur au niveau des lignes en pointillés à l'aide de minuties. (B) Contenu de l'abdomen. Tête de flèche blanche : œufs ; tête de flèche rouge : bactériocytes (en jaune) dans la partie basale des œufs.

2.6. Analyses statistiques

L'analyse statistique des données a été réalisée en utilisant le logiciel R (R Development Core Team 2011; <http://www.R-project.org>). La survie des femelles F1 élevées sur les milieux Ap3 et Ap3 carencés en acides aminés a été analysée avec un modèle à risque proportionnel de Cox (Cox, 1972) (package R *survival*, Therneau, 2021). Le nombre total d'œufs produits par ces femelles a été analysé avec un modèle linéaire généralisé (GLM) (avec une fonction de lien log et une structure d'erreur binomiale négative). Ces deux modèles intègrent comme effets fixes (i) le type de milieu artificiel testé (Ap3, Ap3AA⁻, Ap3ILV⁻ ou Ap3Lys⁻), (ii) le cytotype de l'insecte (Q1-HW ou Q2-ARW), et (iii) son génotype (AA, AC, CA ou CC ; hiérarchisé dans le cytotype). La survie des femelles CC(Q2-ARW) sur les milieux Bt1, Ap3 et sur l'hibiscus a été analysée avec un test de log-rank (package R *survival*). Le nombre d'œufs pondus, contenus dans l'abdomen et produits par ces femelles a été analysé avec des GLM (avec une fonction de lien log et une structure d'erreur binomiale négative). Lorsqu'elles ont été nécessaires, des comparaisons multiples entre les modalités d'un facteur ont été réalisées avec un test de Tukey (Tukey, 1949) (package *emmeans*, Russell, 2020).

3. Résultats

3.1. Mesures phénotypiques sur les milieux Ap3 carencés en acides aminés

Mesures de survie

L'analyse des données n'a pas révélé d'effet statistiquement significatif de la composition du milieu sur la survie de *B. tabaci* [$\chi^2(3) = 7,58$; $P = 0,056$] (**Figure 17**). Toutefois, nous observons des tendances : le retrait de tous les acides aminés semble avoir un effet négatif sur la survie de *B. tabaci*, qui est plus faible sur le milieu Ap3AA⁻ que sur le milieu Ap3 (rapport des risques : 1,26 ; intervalle de confiance 95% [0,84 ; 1,89]). À l'inverse, le retrait spécifique de l'isoleucine, de la leucine et de la valine semble avoir un effet positif sur la survie des femelles, qui est plus élevée sur le milieu Ap3ILV⁻ que sur le milieu Ap3 (rapport des risques : 0,71 ; intervalle de confiance 95% [0,47 ; 1,07]) (**Figure 17**). D'une manière générale, la survie est meilleure sur le milieu Ap3ILV⁻ que sur tous les autres milieux, et elle est moins bonne sur le milieu Ap3AA⁻ que sur tous les autres milieux. Nous n'avons pas détecté d'effet du cytotype de l'insecte [$\chi^2(1) = 0,00030$; $P = 0,98$], ni de différence entre génotypes [$\chi^2(2) = 4,52$; $P = 0,10$]. Il n'y a pas non plus d'interaction entre la composition du milieu nutritif et le cytotype [$\chi^2(3) = 3,15$; $P = 0,37$], ou entre la composition du milieu nutritif et le génotype [$\chi^2(6) = 3,71$; $P = 0,72$].

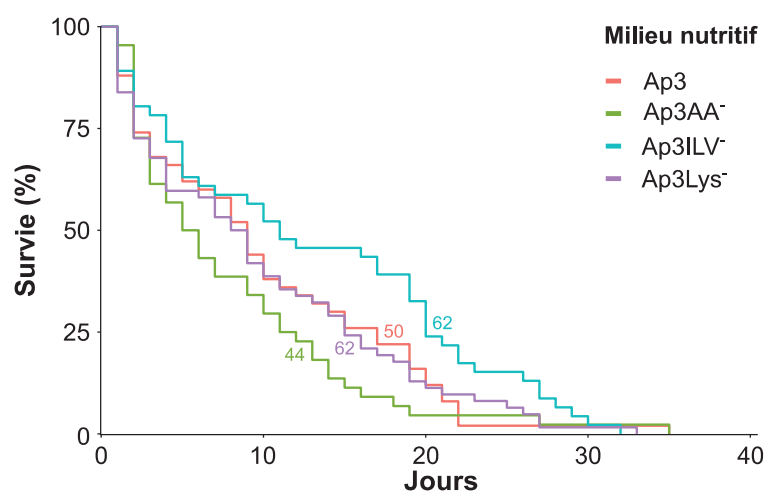


Figure 17. Survie de *B. tabaci* en fonction de la composition du milieu artificiel. Les nombres en couleur au niveau des courbes de survie indiquent le nombre de répétitions par milieu (toutes les femelles F1 confondues). Ap3 : milieu artificiel complet contenant tous les acides aminés ; Ap3AA⁻ : milieu Ap3 sans acides aminés ; Ap3ILV⁻ : milieu Ap3 sans isoleucine, leucine et valine ; Ap3Lys⁻ : milieu Ap3 sans lysine.

Mesures de fécondité

De manière générale, le nombre d'œufs pondus sur les milieux artificiels est nul ou faible. En effet, 42% des femelles n'ont pas pondu, et les 58% restantes ont pondu en moyenne 5,8 œufs (**Figure 18A**). Ces résultats obtenus sur des milieux artificiels diffèrent grandement de nos précédentes observations sur plante. En effet, sur une même période (7 jours), *B. tabaci* pond en moyenne une trentaine d'œufs sur hibiscus sur les trois lignées utilisés dans ce travail (Benhamou *et al.*, 2021). Il est possible que sur ces milieux nutritifs artificiels, les femelles *B. tabaci* (i) refusent de pondre leurs œufs et/ou (ii) soient physiologiquement limitées dans leur capacité à en produire.

Afin vérifier cette deuxième hypothèse, ces mêmes femelles ont été disséquées au terme des 7 jours de ponte pour déterminer le nombre d'œufs contenus dans leur abdomen (**Figure 18B**). Nos résultats indiquent que *B. tabaci* est capable de produire des œufs, puisque les femelles possèdent en moyenne 9,4 (SE : 0,8) œufs dans leur abdomen sur le milieu Ap3AA⁻, jusqu'à 14,3 œufs en moyenne (SE : 0,9) sur le milieu Ap3 complet. Ces résultats sont comparables à de précédentes observations réalisées chez des femelles des trois lignées utilisées dans cette thèse élevée sur l'hibiscus, dont l'abdomen contient en moyenne une dizaine d'œufs (chez les trois lignées de *B. tabaci*, Sylvain Benhamou, observations personnelles).

Pour obtenir une vue d'ensemble de la capacité de *B. tabaci* à produire des œufs, nous avons calculé le nombre total d'œufs produits par femelle (nombre d'œufs pondus + nombre d'œufs contenus dans l'abdomen) (**Figure 5C**). Il y a un effet statistiquement significatif de la composition du milieu sur le nombre total d'œufs produits par femelle [$\chi^2(3) = 37,82$; $P < 0,001$]. Le nombre total d'œufs produits est le plus élevé sur le milieu Ap3 complet (moyenne : 18,2 ; SE : 1,0), tandis qu'il est le plus faible sur le milieu Ap3AA⁻ (moyenne : 9,7 ; SE : 0,9), et à un niveau intermédiaire sur les milieux Ap3ILV⁻ (moyenne : 13,8 ; SE : 1,0) et Ap3Lys⁻ (moyenne : 12,7 ; SE : 0,9) ($P < 0,05$) (les comparaisons 2 à 2 des milieux sont indiquées sur la **Figure 18C**). Ces résultats indiquent que les apports nutritionnels en lysine et en isoleucine, leucine et/ou valine sont importants pour la production des œufs chez *B. tabaci*. En revanche, il n'y a pas d'effet statistiquement significatif du cytotype de l'insecte [$\chi^2(1) = 3,25$; $P = 0,072$], de différence entre génotypes au sein de chaque cytotype [$\chi^2(3) = 0,67$; $P = 0,88$], ni d'interaction entre la composition du milieu nutritif et le génotype [$\chi^2(6) = 5,17$; $P = 0,52$]. Il n'y a pas non plus d'interaction entre la composition du milieu et le cytotype [$\chi^2(3) = 4,75$; $P = 0,19$]. Toutefois, le nombre total d'œufs produits sur le milieu Ap3ILV⁻ semble plus élevé

chez les femelles du cytotype Q2-ARW (moyenne : 16,2 ; SE : 1,5) que chez celles du cytotype Q1-HW (moyenne : 11,1 ; SE : 1,2). Ces observations suggèrent une influence marginale du cytotype sur la capacité de *B. tabaci* à produire des œufs lors d'une carence alimentaire en ILV (taille d'effet (Cohen's *d*): 0,33 ; intervalle de confiance 95% [0,085 ; 0,57]).

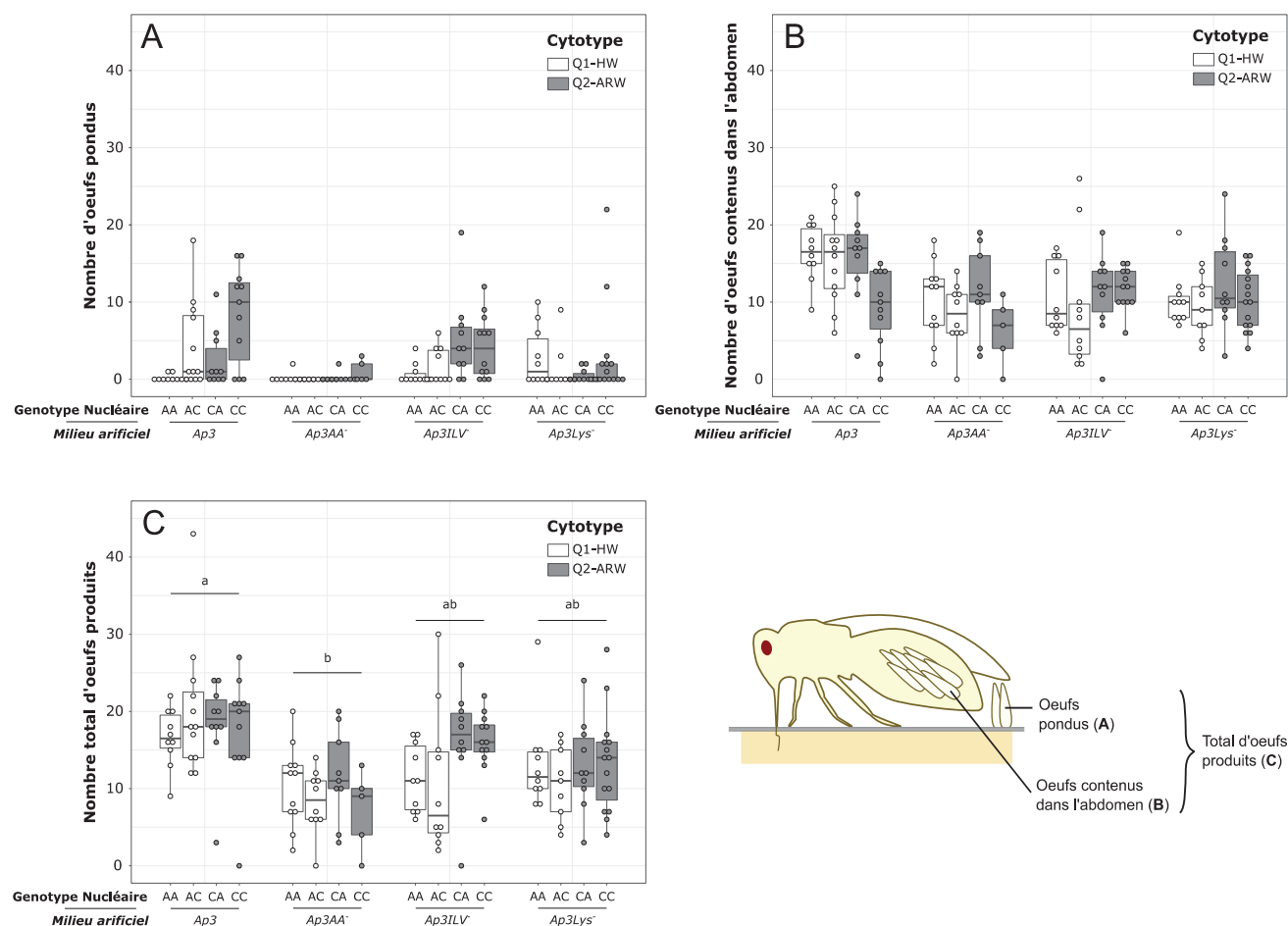


Figure 18. Capacité de *B. tabaci* à produire des œufs sur milieu Ap3 carencé en acides aminés en fonction du cytotype et du génotype de l'insecte. (A) Nombre d'œufs pondus, (B) contenus dans l'abdomen et (C) total des œufs produits (pondus + contenus dans l'abdomen) par femelle au terme des 7 jours d'expérience. Chaque point représente une mesure pour une femelle, les barres horizontales à l'intérieur des diagrammes en boîtes correspondent à la valeur médiane et la longueur des boîtes représente l'intervalle interquartile. Les moustaches s'étendent jusqu'aux valeurs de données les plus hautes et les plus basses dans un intervalle égal à 1,5 fois l'intervalle interquartile à partir du haut et du bas des boîtes ($n = 5$ à 15 mesures par modalité). Toutes les mesures ont été réalisées sur des femelles F1 obtenues par croisement à partir de deux lignées de laboratoire AA(Q1-HW) et CC(Q2-ARW). Femelles F1 : génotype nucléaire : la première lettre indique le génotype nucléaire hérité de la mère, la seconde lettre indique celui hérité du père; cytotype: groupe mitochondrial (Q1 ou Q2) + symbiotes secondaires (A : *Arsenophonus* ; H : *Hamiltonella* ; R : *Rickettsia* ; W : *Wolbachia*). Milieux artificiels : Ap3 : milieu nutritif artificiel complet contenant tous les acides aminés ; Ap3AA⁻ : milieu Ap3 sans acides aminés ; Ap3ILV⁻ : milieu Ap3 sans isoleucine, leucine et valine ; Ap3Lys⁻ : milieu Ap3 sans lysine. Les lettres au-dessus des diagrammes en boîtes dans le cadran (C) indiquent l'appartenance à un groupe statistique donné déterminé par comparaisons multiples (Test de Tukey, $P < 0.05$).

En conclusion, le nombre d'œufs pondus ou le nombre d'œufs produits (= pondus + contenus dans l'abdomen des femelles) par *B. tabaci* sur les différents milieux artificiels testés est inférieur aux 30 œufs pondus ou aux 40 œufs produits en moyenne sur l'hibiscus par les trois lignées utilisées dans cette thèse (Sylvain Benhamou, observations personnelles). Ces résultats suggèrent que l'élevage de *B. tabaci* sur le milieu Ap3 et ses dérivés impacte de manière potentiellement non exclusive deux paramètres : (i) le comportement de ponte de l'insecte et (ii) sa capacité à produire des œufs.

3.2. Élaboration du milieu nutritif artificiel Bt1

Bien que le milieu Ap3 complet soit plus adapté à la production des œufs que les trois milieux Ap3 carencés en acides aminés, il ne semble pas optimal pour *B. tabaci* car le nombre d'œufs produits sur ce milieu (moyenne : 18,2 ; SE : 1,0) est bien inférieur au nombre d'œufs produits sur l'hibiscus (40 en moyenne, Sylvain Benhamou, observation personnelle.). Ce constat nous a encouragé à retravailler la formulation du milieu Ap3 afin de l'optimiser pour *B. tabaci*. Nous avons ainsi élaboré le milieu Bt1, dont la composition en acides aminés est dérivée du profil en acides aminés totaux moyen de *B. tabaci* (**Tableau 10**). Ce profil est exprimé en pourcentage relatif de chaque acide aminé individuel par rapport au contenu total en acides aminés de l'insecte, toutes lignées confondues. Par exemple, l'arginine représente 4,65% du contenu total en acides aminés de *B. tabaci*.

Tableau 10. Profil en acides aminés totaux de *B. tabaci*, déterminé par analyse HPLC sur des groupes de femelles des trois lignées AA(Q1-HW), BB(Q1-HR) et CC(Q2-ARW) (n=3 groupes de 5 femelles par modalité) (% relatif, moyenne \pm écart-type).

Acide aminé	Lignée			Profil moyen ^a	
	AA(Q1-HW)	BB(Q1-HR)	CC(Q2-ARW)		
Essentiel	Arginine	4,69 \pm 0,11	4,62 \pm 0,10	4,65 \pm 0,25	4,65
	Histidine	2,61 \pm 0,17	2,50 \pm 0,05	2,86 \pm 0,14	2,66
	Isoleucine	5,19 \pm 0,25	5,18 \pm 0,12	5,22 \pm 0,13	5,20
	Leucine	7,00 \pm 0,21	6,97 \pm 0,13	7,17 \pm 0,21	7,05
	Lysine	6,80 \pm 0,31	7,08 \pm 0,28	7,86 \pm 0,75	7,25
	Méthionine	1,31 \pm 0,22	1,53 \pm 0,37	1,87 \pm 0,20	1,57
	Phénylalanine	4,00 \pm 0,12	3,95 \pm 0,08	3,79 \pm 0,14	3,91
	Thréonine	4,64 \pm 0,14	4,69 \pm 0,07	4,91 \pm 0,25	4,75
	Valine	6,08 \pm 0,10	5,87 \pm 0,07	6,24 \pm 0,10	6,06
Non essentiel	Alanine	9,68 \pm 0,65	9,40 \pm 0,11	10,10 \pm 0,53	9,73
	Asx ^b	8,95 \pm 0,13	9,01 \pm 0,18	9,01 \pm 0,17	8,99
	Glx ^c	14,21 \pm 1,31	14,57 \pm 0,24	12,36 \pm 0,61	13,71
	Glycine	9,02 \pm 0,47	8,54 \pm 0,25	8,85 \pm 0,12	8,80
	Proline	5,42 \pm 0,12	6,38 \pm 0,44	4,99 \pm 1,08	5,60
	Serine	6,51 \pm 0,27	6,21 \pm 0,38	6,29 \pm 0,46	6,34
	Tyrosine	3,90 \pm 0,49	3,47 \pm 0,12	3,83 \pm 0,26	3,73

^a Profil moyen des trois lignées utilisé pour l'élaboration du milieu Bt1

^b Asx: aspartate + asparagine

^c Glx: glutamate + glutamine

Le milieu Bt1 possède la même concentration molaire totale en acides aminés que le milieu Ap3 (260mM), mais avec une répartition de chaque acide aminé différente (**Tableau 11**), correspondant à leur pourcentage relatif dans le profil moyen de *B. tabaci* (**Tableau 10**). Les changements les plus importants par rapport à la composition du milieu Ap3 concernent l'acide aminé essentiel phénylalanine (-44%) et les acides aminés non essentiels glutamine (-46%), alanine (+23%), proline (+27%), serine (+36%) et tyrosine (+345%).

Tableau 11. Composition en acides aminés des milieux nutritifs artificiels Ap3 et Bt1.

Acide aminé	Masse molaire (g/mol)	Ap3		Bt1		Ratio Bt1/Ap3	
		Concentration molaire (mmol/L)	Concentration massique (mg/100 mL)	Concentration molaire (mmol/L)	Concentration massique (mg/100 mL)		
Essentiel	Arginine	174,20	14,06	244,93	11,83	206,01	0,84
	Histidine	209,63	6,49	136,05	6,75	141,53	1,04
	Isoleucine	131,18	12,56	164,76	13,21	173,35	1,05
	Leucine	131,18	17,65	231,53	17,91	235,00	1,01
	Lysine	182,65	19,22	351,05	18,42	336,38	0,96
	Méthionine	149,21	4,85	72,37	3,99	59,57	0,82
	Phénylalanine	165,19	17,83	294,53	9,95	164,34	0,56
	Thréonine	119,12	10,67	127,10	12,07	143,75	1,13
	Tryptophane	204,23	2,09	42,68	2,09	42,68	1,00
	Valine	117,15	16,29	190,84	15,42	180,64	0,95
Non essentiel	Alanine	89,09	20,06	178,71	24,73	220,28	1,23
	Alanine-β	89,10	0,70	6,24	0,70	6,24	1,00
	Asparagine	150,14	19,88	298,48	17,14	257,39	0,86
	Aspartate	133,11	6,63	88,25	5,72	76,10	0,86
	Cystéine	121,16	2,44	29,56	2,44	29,56	1,00
	Glutamate	147,13	10,15	149,34	8,71	128,10	0,86
	Glutamine	146,15	30,49	445,61	26,15	382,25	0,86
	Glycine	75,07	22,19	166,58	22,38	167,99	1,01
	Ornithine	168,62	0,56	9,44	0,56	9,44	1,00
	Proline	115,13	11,23	129,29	14,23	163,86	1,27
	Serine	105,09	11,83	124,32	16,11	169,33	1,36
	Tyrosine	181,19	2,13	38,59	9,49	171,91	4,45

3.3. Mesures phénotypiques sur le milieu Bt1

L'adéquation du milieu Bt1 pour l'élevage de *B. tabaci* a été évalué chez des femelles de la lignée CC(Q2-ARW) (**Tableau 7**). La survie de ces femelles et leur capacité à produire des œufs sur le milieu Bt1 ont été comparées à des données obtenues simultanément sur le milieu Ap3 et sur hibiscus.

Il n'y a pas d'effet statistiquement significatif du type de régime alimentaire sur la survie des femelles [$\chi^2(2) = 2,80$; $P = 0,2$] (**Figure 19**). Ainsi, la modification de formulation du milieu Ap3 pour élaborer le milieu Bt1 n'a pas eu d'incidence sur la survie des individus, et les résultats obtenus sur ces milieux sont comparables à ceux obtenus sur l'hibiscus.

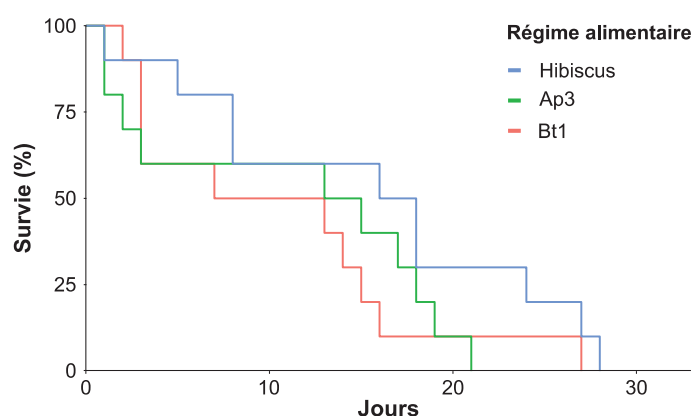


Figure 19. Survie de *B. tabaci* sur l'hibiscus et sur milieux nutritifs artificiels Ap3 et Bt1. La formulation des milieux nutritifs artificiels est basée sur le profil en acides aminés totaux d'*A. pisum* (Ap3) ou de *B. tabaci* (Bt1). n = 10 répétitions par modalité.

Il y a un effet statistiquement significatif du régime alimentaire sur le nombre d'œufs pondus par femelle pendant les 7 jours d'expérience [$\chi^2(2) = 42,3$; $P < 0,001$] (**Figure 20A**). Le nombre d'œufs pondus sur les milieux artificiels Ap3 (moyenne : 3,7 ; SE : 1,1) et Bt1 (moyenne : 4,5 ; SE : 1,2) est similaire. Par contre il est inférieur au nombre d'œufs pondus sur hibiscus (moyenne : 24,5 ; SE : 4,5) (**Figure 20A**). Au terme des 7 jours de ponte, ces mêmes femelles ont été disséquées pour analyser le nombre d'œufs contenus dans leur abdomen (**Figure 20B**), et calculer le nombre total d'œufs qu'elles ont produit pendant ces 7 jours (**Figure 20C**). Il y a un effet significatif du type de régime alimentaire sur le nombre d'œufs contenus dans l'abdomen des femelles [$\chi^2(2) = 16,1$; $P < 0,001$] (**Figure 20B**). Le nombre d'œufs contenus dans l'abdomen des femelles élevées sur les milieux Ap3 (moyenne : 13,0 ; SE : 2,0) et Bt1 (moyenne : 12,2 ; SE : 1,7) est similaire, et supérieur à celui des femelles élevées sur l'hibiscus (moyenne : 6,5 ; SE : 0,8). Enfin, le type de régime alimentaire a également un effet significatif sur le nombre total d'œufs produits [$\chi^2(2) = 26,2$; $P < 0,001$] (**Figure 20C**). Les femelles élevées sur les milieux Ap3 (moyenne : 16,7 ; SE : 2,1) et Bt1 (moyenne : 16,8 ; SE : 2,0) ont produit un nombre d'œufs équivalent, mais moins élevé que sur l'hibiscus (moyenne : 31,1 ; SE : 2,6). Ces résultats indiquent que l'ajustement de formulation du milieu Ap3 afin d'élaborer le milieu Bt1 ne permet pas d'améliorer la capacité de *B. tabaci* à produire des œufs sur milieu nutritif artificiel.

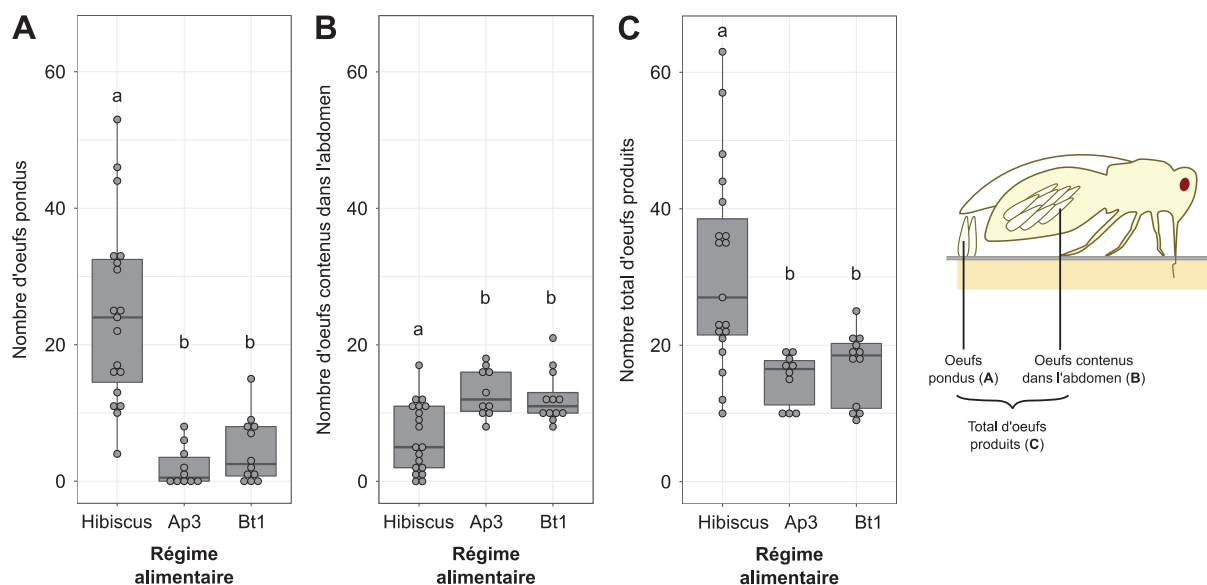


Figure 20. Capacité des femelles *B. tabaci* CC(Q2-ARW) à produire des œufs sur l'hibiscus ou sur les milieux nutritifs artificiels Ap3 et Bt1. (A) Nombre d'œufs pondus, (B) contenus dans l'abdomen et (C) total des œufs produits (pondus + contenus dans l'abdomen) par femelle au terme des 7 jours d'expérience. Chaque point représente une mesure pour une femelle, les barres horizontales à l'intérieur des diagrammes en boîtes correspondent à la valeur médiane et la longueur des boîtes représente l'intervalle interquartile. Les moustaches s'étendent jusqu'aux valeurs de données les plus hautes et les plus basses dans un intervalle égal à 1,5 fois l'intervalle interquartile à partir du haut et du bas des boîtes ($n = 10$ à 19 par régime alimentaire). Les lettres au-dessus des diagrammes en boîtes indiquent l'appartenance à un groupe statistique donné déterminé par comparaisons multiples (Test de Tukey, $P < 0.05$).

4. Discussion

L'élevage de *B. tabaci* sur des milieux nutritifs artificiels concerne majoritairement des milieux simples à base d'eau et de saccharose (de 20 à 30%) (e.g., Davidson *et al.*, 1996), avec parfois l'ajout d'extraits de levure (5%) (e.g., Jancovich *et al.*, 1997) comme source d'acides aminés et de vitamines. S'il est possible de maintenir des adultes en vie sur ces milieux, l'accomplissement d'un cycle de développement complet est très difficile à réaliser en raison d'une importante mortalité larvaire. En effet, de précédentes études ont rapporté un taux de développement (% de larves L1 devenant adulte) allant de 0,5 à 2% sur milieu artificiel (30% sucrose + 5% extraits de levure) (Jancovich *et al.*, 1997; Davidson *et al.*, 2000). Chez l'adulte, ces milieux ont été utilisés dans le cadre d'études toxicologiques (e.g., Davidson *et al.*, 1996; Blackburn *et al.*, 2005; Xia *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2021) et métaboliques (e.g., Ren *et al.*, 2020, 2021; Wang *et al.*, 2020) *in vitro*, ou pour l'administration orale d'antibiotiques (e.g., Zhang *et al.*, 2015; Shan *et al.*, 2016, 2019; Lv *et al.*, 2018; Ren *et al.*, 2020, 2021; Wang *et al.*, 2020) et d'ARN interférents (e.g., Upadhyay *et al.*, 2011; Ren *et al.*, 2020, 2021; pour revue, voir aussi Grover *et al.*, 2018). Ces milieux ont également été utilisés dans des expériences plus approfondies visant à déterminer l'influence des acides aminés (Thompson, 2006), de certains sucres (Salvucci *et al.*, 1997; Salvucci *et al.*, 1998; Salvucci et Crafts-brandner, 2000) et des paramètres physico-chimiques du milieu (Salvucci *et al.*, 1997) sur la performance et la physiologie de *B. tabaci*. Étonnamment, ces travaux n'ont pas abouti au développement d'un milieu artificiel optimisé pour l'élevage de *B. tabaci*.

Influence du cytotype sur les capacités métaboliques de B. tabaci

Les expériences de ce chapitre ont pu être réalisées grâce au milieu nutritif artificiel de composition contrôlée Ap3, initialement optimisé pour l'élevage du puceron du pois *A. pisum* (Febvay *et al.*, 1987), puis adapté à la cochenille du manioc *P. manihoti* (Calatayud et Rahbe, 1998; Calatayud, 2000), deux hémiptères phloémophages proches de *B. tabaci*. Le milieu Ap3 semble adéquat pour la survie de *B. tabaci* au stade adulte, qui montre sur ce milieu des performances comparables au milieu A5, une version plus sucrée (30% saccharose) du milieu Ap3 utilisée par Upadhyay et collaborateurs (Upadhyay *et al.*, 2011, 2016). Le milieu Ap3 pourrait donc être utilisé dans le cadre d'expériences impliquant un séjour prolongé de l'adulte sur le milieu, comme dans le cadre de traitements antibiotiques ou à base d'ARN interférents. Sur le milieu Ap3, la ponte de *B. tabaci* observée (0,5 œuf/femelle/jour) est faible en comparaison à nos précédentes observations sur l'hibiscus (5,6 œufs/femelle/jour) et le tabac (5,4 œufs/femelle/jour), deux plantes favorables pour *B. tabaci*. Elle est même plus faible que

sur le lantana (2,4 œufs/femelle/jour), une plante non-favorable (Benhamou *et al.*, 2021). Ainsi le milieu Ap3 n'est pas optimal pour la ponte de *B. tabaci*. Pour obtenir une vue d'ensemble de la capacité de *B. tabaci* à produire des œufs sur le milieu Ap3 complet et ses dérivés carencés en acides aminés spécifiques, nous avons disséqué les femelles, et calculé le nombre total d'œufs produits (nombre d'œufs pondus + nombre d'œufs contenus dans leur abdomen) par ces dernières. Cette analyse nous a montré que l'élevage sur milieu Ap3 et ses dérivés interfère également avec le nombre total d'œufs produits, en plus de limiter la ponte

La modification de la composition en acides aminés du milieu Ap3 nous a permis d'étudier les conséquences d'une carence nutritionnelle impliquant tous les acides aminés (milieu Ap3AA⁻), la lysine (milieu Ap3Lys⁻) ou les trois acides aminés branchés, l'isoleucine, la leucine et la valine (milieu Ap3ILV⁻) sur la survie et la capacité de *B. tabaci* à produire des œufs.

Les résultats obtenus sur le milieu Ap3AA⁻ indiquent que l'apport nutritionnel d'acides aminés contribue à la survie et la production des œufs chez *B. tabaci*. Ils suggèrent également que la biosynthèse d'acides aminés par l'hôte et ses symbiotes n'est pas suffisante pour compenser une carence alimentaire impliquant ces nutriments. Ces résultats sont cohérents avec une précédente étude menée chez *B. tabaci*, montrant que l'ajout de certains acides aminés à des concentrations spécifiques dans un milieu à base uniquement de sucrose et d'eau améliore la survie (notamment l'asparagine, la glutamine et la thréonine) et stimule la ponte (notamment la proline, l'aspartate et l'alanine) de *B. tabaci* (Thompson, 2006).

Une carence nutritionnelle en lysine (milieu Ap3Lys⁻) n'a pas eu d'incidence sur la survie de *B. tabaci*, ce qui indique que cet insecte n'est pas dépendant d'un apport nutritionnel en lysine pour sa survie. Pourtant, une étude spécifiquement menée chez *B. tabaci* a montré qu'une faible quantité de lysine dans le milieu nutritif artificiel pouvait être corrélée à une réduction de la survie de l'insecte (Thompson, 2006). Dans notre étude, il est possible que la biosynthèse de la lysine par l'hôte et ses symbiotes soit suffisante pour assurer la survie de l'insecte. En revanche, cette carence nutritionnelle en lysine est associée à une réduction du nombre d'œufs produits par *B. tabaci*, ce qui indique que c'est un acide aminé important l'ovogénèse chez *B. tabaci*. Ce résultat est corroboré par une précédente étude montrant qu'une réduction de la quantité de lysine libre dans le corps de l'insecte (via l'extinction du gène *lysA* de *B. tabaci* intervenant dans la voie de biosynthèse de la lysine) pouvait être corrélée à une réduction de la fécondité de l'insecte (Bao *et al.*, 2021). Nos résultats suggèrent également que cet apport endogène en lysine ne subvient pas totalement aux besoins nutritionnels de *B. tabaci*.

Enfin, nous n'avons pas observé de différence entre cytotypes infectés ou non par *Rickettsia*, ce qui suggère que ce symbiote secondaire n'intervient pas de manière significative dans la production de ce métabolite pour l'holobionte, contrairement à ce qui a été proposé par Bao et collaborateurs (Bao *et al.*, 2021).

La survie des femelles élevées sur le milieu carencé en ILV (milieu Ap3ILV⁻) tend à être plus élevée que sur le milieu Ap3 complet. Ce phénomène pourrait être lié à une concentration trop importante d'isoleucine dans le milieu Ap3 (1,65 mg.ml⁻¹), qui aurait un impact négatif sur la survie de *B. tabaci*. En effet, une précédente étude menée chez *B. tabaci* a montré que l'ajout d'isoleucine dans le milieu nutritif pouvait être corrélé à une réduction de la survie des adultes, allant de 90% de survie après 4 jours pour 0,004 mg.mL⁻¹ d'isoleucine, à 65% de survie pour 4,0 mg.mL⁻¹ (Thompson, 2006). En revanche, cette étude n'a pas montré d'effet négatif de la leucine et de la valine sur la survie de *B. tabaci*. Ainsi, réduire la concentration d'isoleucine dans le milieu Ap3 pourrait contribuer à améliorer le milieu Ap3 pour l'élevage de *B. tabaci*. A l'inverse, le nombre d'œufs produits par *B. tabaci* sur le milieu Ap3ILV⁻ est plus faible que sur le milieu Ap3, ce qui indique que ce sont des acides aminés importants pour la production des œufs.

En plus des différences observées dans le nombre d'œufs produits entre les milieux Ap3, Ap3AA⁻, Ap3lys⁻ et Ap3ILV⁻, il semble y avoir une différence entre cytotypes sur le milieu Ap3ILV⁻. En effet, sur ce milieu, les femelles CA(Q2-ARW) tendent à produire plus d'œufs que les femelles AC(Q1-HW), alors qu'elles partagent le même génotype. Au contraire, nous n'avons pas observé de telles tendances entre des femelles ayant le même cytotype, mais différents génotypes [*i.e.*, AA(Q1-HW) et AC(Q1-HW) ou CC(Q2-ARW) et CA(Q2-ARW)]. Ces résultats suggèrent que le cytotype influence la capacité de *B. tabaci* à produire des œufs lors d'une carence nutritionnelle en ILV. Comme déjà introduit dans le chapitre 1 de cette thèse, les symbiotes secondaires sont de bons candidats pour expliquer la différence observée entre cytotypes, étant donné que certains d'entre eux (*e.g.*, *Hamiltonella* et *Rickettsia* (Rao *et al.*, 2015; Opatovsky *et al.*, 2018) ont conservé des gènes impliqués dans les voies de biosynthèses des acides aminés essentiels, absents du génome de *Portiera* (Rao *et al.*, 2015).

Nos résultats suggèrent que les femelles du cytotype Q2-ARW sont relativement moins dépendantes d'un apport nutritionnel en ILV pour la production de leurs œufs que celles du cytotype Q1-HW. Il est tentant d'associer cette différence à la présence de *Rickettsia* chez les femelles du cytotype Q2-ARW. En effet, *Rickettsia* est le seul symbiote secondaire de *B. tabaci* à avoir conservé le gène *ilvE*, codant pour l'enzyme réalisant la dernière réaction de la voie de

biosynthèse de l'isoleucine, de la leucine et de la valine, et qui est absent du génome de *Portiera* (Chen *et al.*, 2016) (**Figure 13A**). Ainsi, il est possible que ce symbiote secondaire contribue à la biosynthèse de ces trois acides aminés essentiels en complétant la voie de biosynthèse de *Portiera*, et qu'il apporte un avantage à son hôte d'une carence nutritive en ILV.

L'influence du cytotype sur les capacités métaboliques de *B. tabaci* pourrait avoir d'importantes conséquences écologiques pour l'insecte. En effet, nous avons montré dans le premier chapitre de ce manuscrit de thèse (**Chapitre 1**, Benhamou *et al.*, 2021), que la ponte de *B. tabaci* est plus faible sur le lantana en comparaison à l'hibiscus ou au tabac, ce qui pourrait être expliqué par des quantités plus faibles d'isoleucine, de leucine et de valine dans cette plante (Benhamou *et al.* 2021). Nous avons également montré que sur le lantana, la ponte était différente entre cytotypes : certains cytotypes (Q1-HR et Q2-ARW) pondent plus d'œufs que d'autres (Q1-HW). Ces différences entre cytotypes pourraient directement s'expliquer par l'influence de *Rickettsia* sur la capacité de l'insecte à produire des œufs lorsqu'il s'alimente d'un régime alimentaire pauvre en ILV.

En résumé, ce travail montre que le cytotype influence la capacité de *B. tabaci* à produire des œufs lors d'une carence nutritive en ILV. Il est possible que ce résultat soit directement lié à la complémentation de la voie de biosynthèse de l'isoleucine, de la leucine et de la valine de *Portiera* par le gène *ilvE* du symbiote secondaire *Rickettsia*. L'exploration plus approfondie de cette hypothèse nécessiterait l'utilisation de lignées de *B. tabaci* qui ne se distingueraient que par l'absence/présence de *Rickettsia*. En ce sens, Zhao et collaborateurs (Zhao *et al.*, 2019) ont récemment réussi à éliminer *Rickettsia* et établir des lignées non infectées chez *B. tabaci* MEAM1 par le biais d'un traitement antibiotique (rifampicine). Nous avons essayé de réaliser ces traitements au laboratoire, mais nous n'avons pas réussi à obtenir de lignées viables. En effet, dans notre cas, le traitement à la rifampicine a entraîné une élimination systématique et non ciblée de tous les symbiotes (y compris *Portiera*) dans la F1. *B. tabaci* semble également pouvoir compléter la voie de biosynthèse de *Portiera*, via le gène *BCAT*. Ainsi, il serait intéressant de pouvoir inhiber l'expression de ce gène, via un traitement à base d'ARN interférents (*e.g.*, Ren *et al.*, 2020, 2021; Wang *et al.*, 2020; Bao *et al.*, 2021). Cette méthode, couplée à la manipulation du cortège symbiotique de *B. tabaci*, pourrait permettre de déterminer clairement les contributions respectives des gènes *ilvE* de *Rickettsia* et *BCAT* de l'insecte à la biosynthèse de l'isoleucine, de la leucine et de la valine. Ces deux traitements (antibiotique et à base d'ARN interférents) pourraient être réalisés grâce au milieu Ap3, qui s'est révélé être adapté à la survie de *B. tabaci*.

Optimisation du milieu Ap3 pour l'élevage de *B. tabaci*

Concernant la moins bonne performance de *B. tabaci* sur le milieu artificiel Ap3 en comparaison à ce qui peut être observée sur une plante, il est possible qu'un élément de la composition du milieu Ap3 et/ou du dispositif expérimental limite directement la ponte des œufs par *B. tabaci*, ou indirectement, en limitant l'appétence de l'insecte pour le milieu. Cette situation est comparable à celle observée avec le puceron du pois *A. pisum* pour lequel le milieu Ap3 a pourtant été développé (**Tableau 12**). De manière plus générale, les hémiptères phloémophages ont du mal à pondre sur ces milieux artificiels, que ce soit par exemple chez différentes espèces de pucerons (e.g., Karley *et al.*, 2002; Wille et Hartman, 2008), les psylles (e.g., Hall *et al.*, 2010) ou les cicadelles (e.g., Koyama, 1988). En règle générale, l'optimisation de la composition de ces milieux a surtout permis d'améliorer le développement et survie des insectes (Febvay *et al.*, 1987; Karley *et al.*, 2002; Wille et Hartman, 2008). Concernant la possible amélioration des performances de *B. tabaci* sur milieu artificiel, nous avons avant tout voulu jouer sur sa composition en acides aminés, l'un des paramètres ayant plus d'importance chez les hémiptères (Febvay *et al.*, 1987; Thompson, 2006). Pour cela, nous avons ajusté la formulation du milieu Ap3, dont le développement était basé sur le profil en acides aminés totaux de *A. pisum* (Febvay *et al.*, 1987), pour élaborer le milieu Bt1, dérivé du profil en acides aminés totaux de *B. tabaci*. Toutefois, ces modifications de composition n'ont pas permis d'obtenir de meilleurs résultats (**Tableau 12**) : nous n'avons pas observé une meilleure ponte, ni une meilleure survie sur le milieu Bt1 en comparaison au milieu Ap3, qui restent tous deux inférieurs à ce qu'on peut observer sur l'hibiscus.

Tableau 12. Fécondité et longévité moyenne de *B. tabaci* et de *A. pisum* sur milieu Ap3 et leurs plantes hôtes respectives.

Organisme	Régime alimentaire	Fécondité moyenne (SE)	Longévité moyenne (SE)
		[nombre d'œufs (<i>B. tabaci</i>) ou de larves (<i>A. pisum</i>) pondue(s) par jour]	(jours)
<i>B. tabaci</i> ^a	Ap3	0,5 (0,2)	10,3 (2,6)
	Bt1	0,6 (0,2)	11,0 (2,6)
	hibiscus	3,5 (0,4)	15,3 (3,0)
<i>A. pisum</i> ^b	Ap3	3,5	35
	fêverole	6,0	45

^a Données obtenues dans cette étude, expérience 'Mesures phénotypiques sur milieu Bt1'.

^b Karen Gaget (BF2i), communication personnelle. Les erreurs standard ne sont pas disponibles.

D'autres stratégies pourraient être envisagées pour améliorer les performances de *B. tabaci* sur milieu artificiel. Il serait notamment pertinent de reproduire le profil en acides aminés libres de l'insecte (Benhamou *et al.*, 2021). En effet, le profil en acides aminés libres d'un organisme est un bon marqueur de son statut métabolique, il reflète la mobilisation des acides aminés individuels, et met en évidence ceux qui sont importants pour sa physiologie. Il serait également intéressant de prendre pour modèle le contenu en acides aminés de l'hibiscus puisqu'il s'agit d'une plante adéquate pour l'élevage de *B. tabaci* (Benhamou *et al.*, 2021). En effet, des milieux reproduisant le contenu en acides aminés des plantes ont permis d'améliorer la performance de certains insectes phloémophages. Par exemple, des milieux basés sur la composition du phloème de la féverole (*Vicia faba*) (Febvay *et al.*, 1999) ou de la pomme de terre (*Solanum tuberosum*) (Karley *et al.*, 2002), ont permis d'élever avec succès différentes espèces de pucerons (*e.g.*, Febvay *et al.*, 1999; Karley *et al.*, 2002; Wille et Hartman, 2008).

Outre la composition en acides aminés du milieu, d'autres facteurs pourraient expliquer le plus faible nombre d'œufs produits par *B. tabaci*. Il est possible qu'un facteur important pour ce processus soit simplement manquant dans la composition du milieu Ap3. Par exemple, van Emden et Wild ont récemment mis en évidence que l'ajout d'acétate de sodium (impliqué dans la biosynthèse des lipides chez les insectes) dans un milieu artificiel complet semblable à Ap3 était associé à une meilleure reproduction du puceron vert du pêcher *Myzus persicae*, qu'ils ont ainsi pu maintenir en élevage sans retour à la plante hôte pendant plus de 30 ans (van Emden et Wild, 2020)! Néanmoins, ce même milieu n'a pas permis d'obtenir les mêmes résultats avec d'autres espèces de pucerons (*i.e.*, le puceron noir de la fève, *Aphis fabae* ; le puceron centré du chou, *Brevicoryne brassicae* ; le puceron du lupin, *Macrosiphum albifrons* ; et le puceron du blé, *Sitobion avenae*). Ainsi, les résultats obtenus avec *M. persicae* pourraient être liés à la grande adaptabilité et oligophagie de ce puceron, qui est capable de s'alimenter sur un large spectre d'hôtes et de milieux. Il est également tout à fait envisageable que l'absence de signaux physiques ou chimiques associés à la plante hôte pourrait décourager la prise alimentaire et la ponte de l'insecte. Par exemple, l'absence de couleur verte est un facteur limitant la prise alimentaire du psylle *Diaphorina citri* (Hall *et al.*, 2010) et la ponte de la cicadelle *Maiestas dorsalis* (Koyama, 1988), qui peuvent être stimulées par l'ajout de colorants dans le milieu artificiel. Toutefois, une tentative d'ajouter des extraits de courgette (*Cucurbita moschata*) dans le milieu n'a pas eu d'effet stimulant sur la prise alimentaire chez *B. tabaci* (Davidson *et al.*, 1996). Ainsi, à ce jour, la nature de ces signaux reste inconnue.

DISCUSSION GÉNÉRALE

Au cours de cette thèse, nous nous sommes intéressés à la relation entre les insectes et leur environnement, en cherchant plus particulièrement à appréhender l'influence des microorganismes symbiotiques sur l'exploitation et la sélection de la plante hôte par les insectes phytophages. Pour y parvenir, nous avons considéré l'aleurode du tabac *B. tabaci* et son cortège de bactéries symbiotiques. Plus spécifiquement, nous avons étudié trois lignées de *B. tabaci* associées à des cortèges de symbiotes secondaires différents.

Afin de mieux appréhender les interactions entre *B. tabaci*, ses symbiotes et la plante hôte nous avons considéré trois espèces de plantes hôtes : l'hibiscus, le lantana et le tabac. Nous avons d'abord montré que ces trois plantes diffèrent dans leur contenu en acides aminés. Nous avons ensuite analysé la capacité de *B. tabaci* à exploiter cet environnement nutritif contrasté. Nous avons mis en évidence une influence de l'espèce de plante hôte sur les réponses phénotypique et physiologiques de *B. tabaci* et de ses symbiotes, suggérant un rôle important des propriétés nutritives de la plante.

Ce premier travail nous a ensuite permis d'explorer l'influence de symbiotes secondaires dans l'utilisation et la sélection de la plante hôte par *B. tabaci*. Afin de s'affranchir de potentielles différences génétiques nucléaires entre nos trois lignées, nous avons travaillé avec des femelles hybrides F1 partageant le même génotype nucléaire, mais associées à différents cytotypes (compartiment cytoplasmique d'un individu, dont ses symbiotes et ses mitochondries). Nous avons démontré que le cytotype influence à la fois l'utilisation et la sélection de la plante hôte de ponte par *B. tabaci*, potentiellement à travers son influence sur le métabolisme des acides aminés de l'insecte.

D'une manière générale, ce travail de thèse aura permis de mieux appréhender l'incidence des symbiotes sur le métabolisme et l'écologie de *B. tabaci*. Il soulève également la question de l'incidence des symbiotes dans l'importante diversification de ce complexe d'espèces, éléments qui seront abordés dans la suite de cette discussion générale.

1. Influence de la plante hôte sur *B. tabaci* et ses symbiotes

Pour étudier les interactions entre *B. tabaci*, ses symbiotes et la plante hôte, nous avons analysé les réponses phénotypiques et physiologiques de *B. tabaci* (fécondité, profil en acides aminés libres) et de ses symbiotes (densité symbiotique) dans un environnement nutritif contrasté. Pour cela, nous avons analysé les propriétés nutritives de l'hibiscus, du tabac et du lantana, trois plantes hôtes de *B. tabaci*. Nous avons montré que ces plantes diffèrent dans leur contenu foliaire en acides aminés. Notamment, le lantana présente des quantités plus faibles de certains acides aminés essentiels en comparaison à l'hibiscus et au tabac, qui présentent des caractéristiques nutritives similaires. Nous avons ensuite montré que l'espèce de plante hôte influence simultanément la fécondité et le profil en acides aminés libres de *B. tabaci*, ainsi que la densité de son symbiote primaire et de ses symbiotes secondaires. La **Figure 21** présente une synthèse de ces résultats.

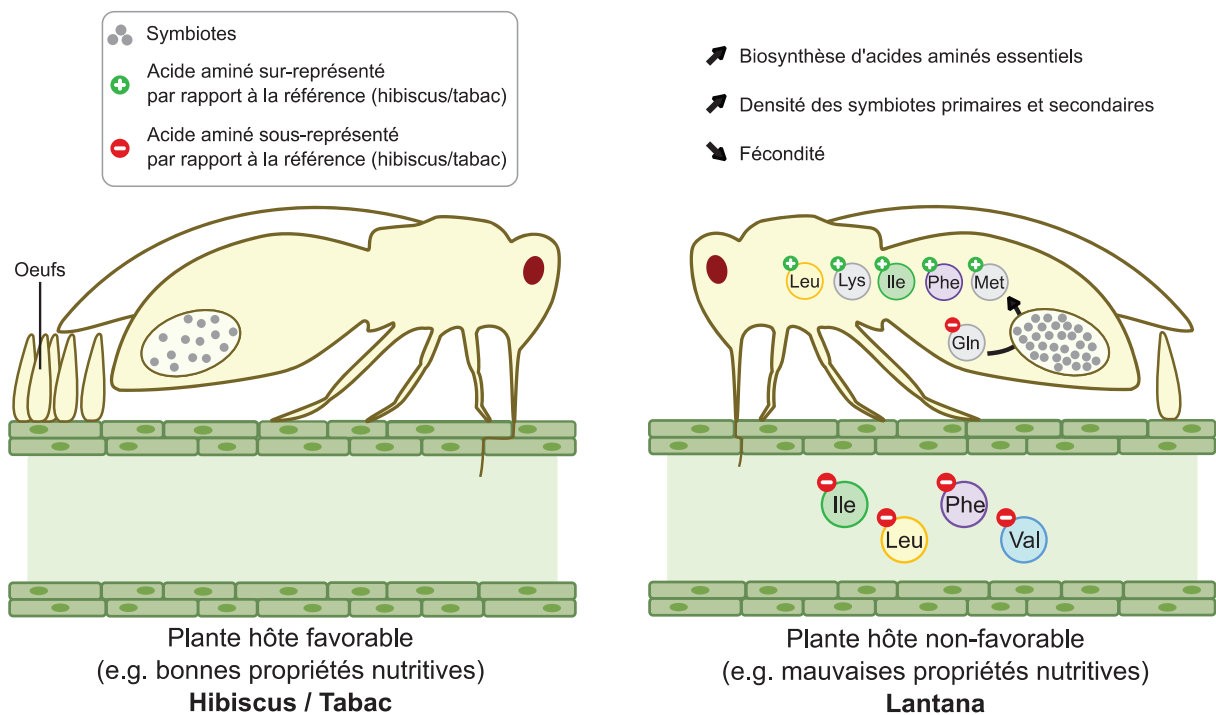


Figure 21. Influence de la plante hôte sur *B. tabaci* et ses symbiotes. Glu : Glutamine, Ile : Isoleucine, Leu : Leucine, Met : Méthionine, Phe : Phénylalanine, Val : Valine.

Sur le lantana, nous avons observé une fécondité réduite par rapport à l'hibiscus ou au tabac. Il est tentant d'associer ces résultats aux propriétés nutritionnelles du lantana. En effet, nous avons démontré que le lantana contenait une quantité plus faible des acides aminés essentiels isoleucine (Ile), leucine (Leu), phénylalanine (Phe) et valine (Val), en comparaison à l'hibiscus ou au tabac. Outre le fait que ces acides aminés sont considérés comme essentiels au développement, à la survie et à la reproduction de tous les métazoaires, des études portant spécifiquement sur *B. tabaci* ont montré que de faibles quantités d'Ile alimentaires étaient corrélées à une réduction de la fécondité (Thompson, 2006, 2011). De plus, les résultats obtenus au cours de cette thèse ont montré qu'un déficit en acides aminés essentiels (Ile, Leu, Val) dans un milieu nutritif artificiel était également associé à une production d'œufs réduite chez *B. tabaci* (**Chapitre 3**). De manière plus générale, un ensemble de travaux menés sur des modèles d'hémiptères ont suggéré que la teneur en acides aminés des plantes peut influencer leur reproduction (Stout *et al.*, 2006). Sur la base de ces résultats et de la littérature (Romba et Gnankiné, 2018), il apparaît clairement que le lantana est la moins favorable des trois plantes testées pour les groupes Q1 et Q2 de l'espèce de *B. tabaci* MED.

Nous avons également observé des différences dans les profils en acides aminés libres de *B. tabaci* entre les femelles élevées sur lantana et celles s'étant développées sur l'hibiscus ou le tabac. Le profil en acides aminés libres d'un tissu, d'un organe ou d'un individu, est un indicateur de son état physiologique, ainsi que des métabolites directement mobilisés et/ou mobilisables par l'hôte et/ou ses partenaires symbiotiques. Nos résultats indiquent donc une différence d'état physiologique entre les insectes élevés sur une plante défavorable, le lantana, et ceux élevés sur des plantes favorables, l'hibiscus et le tabac. Chez les insectes élevés sur le lantana, cinq acides aminés essentiels (Ile, Leu, Lys, Met et Phe) et un acide aminé non-essentiel (Glu) sont présents en plus grande proportion que chez les insectes élevés sur l'hibiscus ou le tabac. A l'inverse, la glutamine (Gln) est moins représentée. La glutamine joue un rôle central dans le métabolisme des acides aminés chez les insectes phloémophages: c'est l'un des principaux précurseurs des acides aminés essentiels synthétisés par les symbiotes nutritionnels (Douglas, 2014; Price *et al.*, 2014; Upadhyay *et al.*, 2015; Feng *et al.*, 2019). Ce profil en acides aminés libres spécifique aux individus élevés sur le lantana pourrait témoigner d'une augmentation de la production d'acides aminés essentiels par le cortège symbiotique de *B. tabaci*, soutenue par une consommation de la glutamine libre. Cette potentielle production d'acides aminés essentiels viendrait en partie compenser les déficits nutritionnels (en Ile, Leu et Phe) du lantana. D'une manière plus générale, le rôle central de la glutamine dans le maintien

du métabolisme des acides aminés, en particulier lors d'un stress nutritif a également été montré chez une autre espèce de *B. tabaci*, l'espèce MEAM1 (Crafts-Brandner, 2002). Dans cette étude, il a été observé une forte réduction de la proportion de glutamine libre dans le corps d'individus élevés sur des plants de coton pauvres en acides aminés. Simultanément, il a été observé une augmentation de la proportion de trois acides aminés essentiels (histidine, méthionine, thréonine) et de trois acides aminés non essentiels (alanine, glutamate, glycine) dans le corps de ces insectes.

Enfin, nous avons observé de plus fortes densités en symbiotes primaire et secondaires sur le lantana en comparaison aux deux autres plantes. De précédentes études suggèrent que la composition en acides aminés des plantes peut influencer la densité des symbiotes chez *B. tabaci*. Liu et collaborateurs (Liu *et al.*, 2020) ont par exemple montré qu'une plus faible abondance en acides aminés essentiels dans certaines espèces de plantes pouvait être corrélée à une augmentation de la quantité relative de *Portiera*, potentiellement pour répondre aux besoins nutritionnels de l'hôte. Dans notre étude, il est possible que l'augmentation de la densité de *Portiera* chez les femelles élevées sur le lantana contribue à compenser les déficits nutritionnels de cette plante. Cette hypothèse est corroborée par le fait que l'augmentation de la densité de *Portiera* est corrélée à l'augmentation de la proportion de certains acides aminés essentiels (Ile, Leu, Lys, Met et Phe) (apportés par les symbiotes nutritionnels) dans le corps de l'insecte. Ces résultats font écho à des données disponibles chez le puceron *A. pisum*, chez qui l'élimination du symbiote primaire *B. aphidicola* a entraîné une diminution de la quantité d'acides aminés essentiels et une accumulation de leur précurseurs dans le corps de l'insecte (Liadouze *et al.*, 1995). De manière analogue, il est possible que les densités plus élevées de symbiotes secondaires chez les femelles élevées sur le lantana répondent à un besoin physiologique de l'hôte, étant donné que certains d'entre eux ont conservé des fonctions nutritionnelles. Nos lignées possèdent notamment les bactéries *Arsenophonus*, *Hamiltonella* et *Wolbachia*. Les données génomiques disponibles pour ces symbiotes suggèrent qu'*Arsenophonus* chez l'espèce Asia II3 (Zhu *et al.*, 2021), *Hamiltonella* chez l'espèce MED (Rao *et al.*, 2015) et *Wolbachia* chez l'espèce Asia II3 (Zhu *et al.*, 2021) peuvent contribuer à la biosynthèse de la lysine. Toutefois, de récentes données expérimentales suggèrent qu'*Hamiltonella* ne participe à cette biosynthèse (Bao *et al.*, 2021). En revanche, les contributions d'*Arsenophonus* et de *Wolbachia* à la biosynthèse de ce métabolite ne sont pas connues. Ainsi, la plus forte densité de ces deux symbiotes secondaires chez les femelles élevées sur le lantana pourrait expliquer la plus forte abondance de lysine dans le corps de ces individus.

Nos résultats conduisent à un constat contradictoire : malgré une densité symbiotique et une biosynthèse d'acides aminés plus importantes, la fécondité des individus sur le lantana demeure plus faible que sur les autres plantes. Une explication possible est que ces changements ne permettent pas de complètement satisfaire les besoins métaboliques de l'insecte. En outre, d'autres facteurs associés à la plante hôte, autres que son profil nutritionnel, sont susceptibles d'impacter négativement la fécondité des insectes. Ces facteurs peuvent être des défenses physiques (*e.g.*, des trichomes ou structures de la feuille) ou chimiques (*e.g.*, des composés de défenses) produits par la plante, mais qui n'ont pas été caractérisés au cours de notre étude.

2. Effet du cytotype : qui tire les ficelles ?

L'utilisation d'hybrides F1 nous a permis de démontrer que le cytotype, mais pas le génotype nucléaire, influence l'utilisation (**Chapitre 1**) et la sélection (**Chapitre 2**) de la plante hôte par *B. tabaci* ainsi que, potentiellement, sa capacité à faire face à une carence alimentaire impliquant des acides aminés essentiels spécifiques (**Chapitre 3**). La limite de notre approche expérimentale est qu'elle ne permet pas d'isoler les différentes composantes du cytotype pour en déterminer les influences respectives sur *B. tabaci*. En effet, plusieurs entités génétiques cohabitent dans le cytoplasme de *B. tabaci* : les mitochondries, le symbiote primaire et, dans notre cas, deux à trois symbiotes secondaires, soit autant d'acteurs potentiellement responsables de l'effet observé du cytotype (**Figure 22**). Par ailleurs, d'autres éléments transmis maternellement pourraient se confondre à l'effet du cytotype, qu'il s'agisse du génome nucléaire du bactériocyte, ou d'effets maternels génétiques et/ou environnementaux.

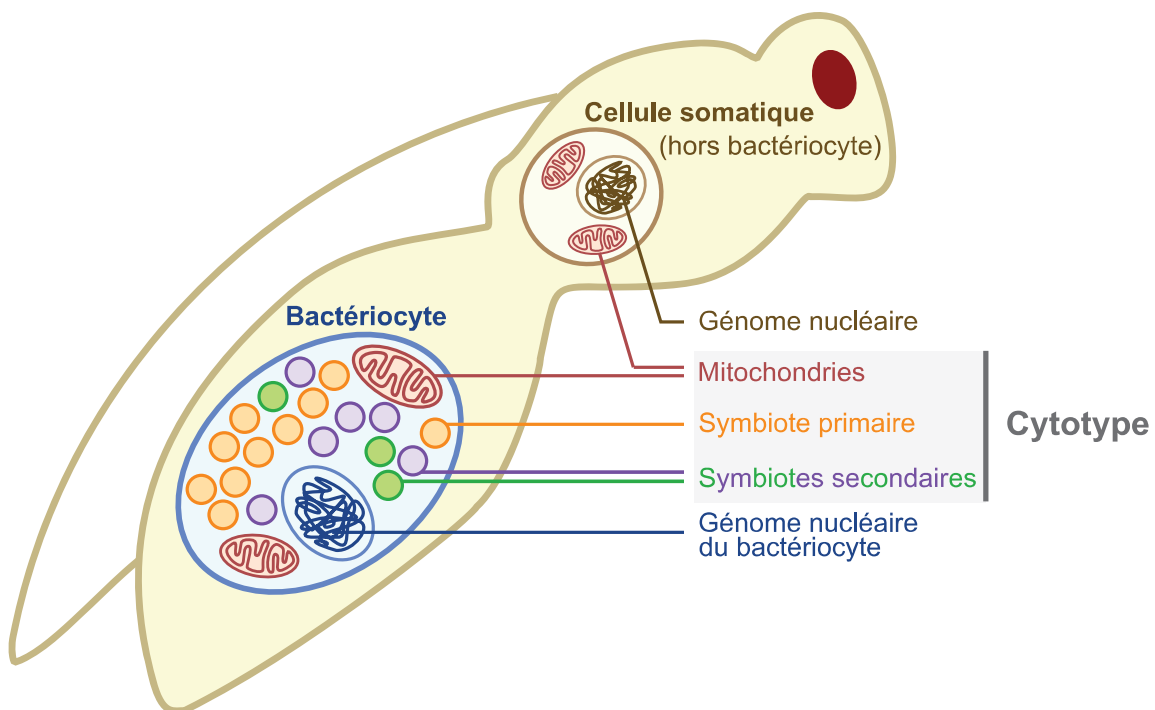


Figure 22. Diversité des entités génétiques intracellulaires chez *B. tabaci*

2.1. Variabilité mitochondriale entre cytotypes

La mitochondrie est une organelle responsable d'importantes fonctions cellulaires comme la transduction de l'énergie, l'apoptose, la détoxification cellulaire, la transduction de signaux et la production d'énergie (ATP) (Clary et Wolstenholme, 1985; Simcox et Reeve, 2016). Une contribution du génome mitochondrial de *B. tabaci* MED à l'exploitation de la plante paraît peu probable. Premièrement, il a un répertoire réduit de gènes (37), dont 13 codant pour des protéines, 2 pour des ARN ribosomiaux et 22 pour des ARN de transfert (15 632 paires de bases) (Wang *et al.*, 2013). Deuxièmement, une analyse récente a révélé que les génomes mitochondriaux des groupes MED-Q1 et MED-Q2 étaient très proches (entre 0.15% et 1.09% de divergence selon les populations considérées) (Vyskočilová *et al.*, 2018). Au cours de ce projet, nous nous sommes focalisés sur trois cytotypes de l'espèce MED : Q1-HW, Q1-HR et Q2-ARW. Or, nous avons montré que les cytotypes Q1-HW et Q1-HR, théoriquement les plus proches en termes de génome mitochondrial, diffèrent par leur phénotype, leur physiologie et leur comportement. A l'inverse, les cytotypes Q1-HR et Q2-ARW, théoriquement plus éloignés sur le plan mitochondrial que Q1-HW et Q1-HR, sont comparables sur le plan phénotypique, physiologique et comportemental. En conclusion, l'hypothèse selon laquelle le génome mitochondrial est responsable des différences observées entre cytotypes peut être écartée.

2.2. Le symbiote primaire, *Portiera*

Bien que les trois cytotypes partagent le même symbiote primaire, il est envisageable que de potentielles variations génétiques et/ou dans la régulation de l'expression des gènes de *Portiera* entre cytotypes puissent expliquer l'effet observé. Les génomes de *Portiera* de l'espèce MED n'ont été séquencés que chez des individus du groupe mitochondrial Q1. Ils témoignent d'une très forte similarité génomique, notamment une même taille et un même contenu génétique, entre populations du groupe Q1 (Santos-Garcia *et al.*, 2012; Rao *et al.*, 2015). La comparaison des génomes de *Portiera* issus de différentes espèces de *B. tabaci* (Asia II 3, China 1, MED, MEAM1, SSA1) a révélé de fortes similitudes génomiques au sein de ce complexe d'espèces (Zhu *et al.*, 2019; Santos-garcia *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2021). Par exemple, les génomes des *Portiera* des espèces MED et MEAM1 ont une similarité de séquence de 99.8% et possèdent un contenu identique en gènes de biosynthèse des acides aminés essentiels, vitamines et cofacteurs (Zhu *et al.*, 2019). Ainsi, il est difficilement envisageable que les différences observées entre cytotypes, faisant partie de la même espèce MED, soient liées à des différences génétiques entre leur *Portiera*.

Il est également peu probable qu'une variation dans l'expression des gènes de *Portiera* entre cytotypes soit responsable de ces différences. Chez les bactéries, la régulation de la biosynthèse des acides aminés se fait principalement au niveau transcriptionnel (*e.g.*, via des facteurs de transcription) (Turnbough, 2019) et traductionnel [*e.g.*, via les petits ARN (sRNA, *small RNA*) ou le système riboswitch] (Serganov et Patel, 2009). Le processus de réduction génomique des symbiotes lié à leur mode de vie intracellulaire s'accompagne le plus souvent d'une forte réduction de leurs fonctions de régulation transcriptionnelle, traductionnelle et post-traductionnelle (McCutcheon et Moran, 2012), y compris celles liées à la régulation de la biosynthèse des acides aminés (Hansen et Moran, 2014). Chez d'autres insectes phloémophages symbiotiques, comme le puceron du pois *A. pisum*, le symbiote primaire *B. aphidicola* a gardé la capacité de réguler au niveau transcriptionnel la synthèse de certains acides aminés via des stratégies alternatives, comme le déplacement de gènes sur des plasmides (gènes de biosynthèse de la leucine, Viñuelas *et al.*, 2011) ou par le biais de sRNA (arginine et autres acides aminés, Thairu *et al.*, 2018; Thairu et Hansen, 2019). Il est intéressant de noter que ces régulations varient en fonction du milieu nutritionnel (Viñuelas *et al.*, 2011) ou de la plante sur laquelle est élevé *A. pisum* (Thairu et Hansen, 2019), mais l'incidence de ces mécanismes de régulation par le symbiote sur l'écologie du puceron n'est pas encore connue. Les analyses réalisées jusqu'à présent sur les génomes de *Portiera* de différentes espèces de *B. tabaci* (Asia II3, China 1, MEAM1 et MED) n'ont pas permis de trouver de gènes de régulation transcriptionnelle de la biosynthèse des acides aminés (Zhu *et al.*, 2019), ni d'autres régulations.

2.3. Les symbiotes secondaires

Contrairement aux mitochondries et au symbiote primaire, les symbiotes secondaires sont de très bons candidats pour expliquer l'effet observé du cytotype sur l'utilisation et la sélection de la plante hôte par *B. tabaci*, et sur sa capacité à faire face à une carence alimentaire impliquant des acides aminés essentiels spécifiques. Chez *B. tabaci*, les symbiotes secondaires pourraient compléter le symbiote primaire et contribuer directement à la biosynthèse des acides aminés essentiels, étant donné que certains d'entre eux (par exemple, *Hamiltonella* et *Rickettsia*) ont conservé les gènes des voies de biosynthèse absents ou non-fonctionnels chez le symbiote primaire, *Portiera* (Rao *et al.*, 2015; Opatovsky *et al.*, 2018). Cette interaction métabolique entre symbiotes est d'autant plus probable qu'elle est facilitée, chez *B. tabaci*, par la co-localisation du symbiote primaire et des symbiotes secondaires au sein des mêmes bactériocytes (Gottlieb *et al.*, 2008).

Nous avons montré dans le chapitre 1 que certains cytotypes semblent faciliter l'utilisation du lantana par *B. tabaci*. En effet, la fécondité des femelles des cytotypes Q1-HR et Q2-ARW était plus élevée sur le lantana que celle des femelles du cytotype Q1-HW. Ces deux cytotypes présentaient également des proportions plus élevées des acides aminés essentiels leucine, méthionine et phénylalanine, tandis que l'inverse était observé pour l'acide aminé non-essentiel glutamine. Comme discuté dans la première partie de cette discussion générale, ce profil métabolique suggère une production d'acides aminés essentiels (produits par les symbiotes) plus élevée dans les cytotypes Q1-HR et Q2-ARW. Ainsi il est très probable que la fécondité de *B. tabaci* sur le lantana soit médiée par l'impact des symbiotes sur le métabolisme des acides aminés de leur hôte, qui pourraient contribuer à la production de certains métabolites ou, au contraire, peser sur le métabolisme global en prélevant des métabolites.

L'influence des symbiotes secondaires sur le métabolisme des acides aminés pourrait avoir des conséquences sur la réponse physiologique de *B. tabaci* dans un environnement contrasté en nutriments. En effet, lors d'expériences de choix entre l'hibiscus et le lantana (**Chapitre 2**), nous avons montré que les femelles du cytotype Q1-HW pondent plus souvent sur l'hibiscus que sur le lantana, tandis que les femelles des cytotypes Q1-HR et Q2-ARW ne montrent pas de préférence de plante pour la ponte.

Chez *B. tabaci*, la sélection de la plante hôte se fait par l'acquisition de signaux olfactifs et gustatifs. La stratégie de recherche basée sur l'olfaction de *B. tabaci* semble reposer sur l'évitement des plantes non-favorables, plutôt que la recherche active d'une plante favorable (Islam *et al.*, 2017; Mrisho *et al.*, 2021). Lorsque *B. tabaci* arrive sur une nouvelle plante, l'insecte réalise des ponctions cellulaires qui lui permettent d'évaluer si celle-ci est favorable pour son alimentation et pour la ponte de ses œufs. Ce choix se fait sur la base des propriétés nutritives de la plante (*e.g.*, son contenu en acides aminés, Powell *et al.*, 2006) et de ses défenses chimiques (Walling, 2008).

Dans notre étude, il est possible que la préférence des femelles du cytotype Q1-HW envers l'hibiscus soit le produit d'un évitement du lantana en raison de leur cytotype relativement désavantageux vis-à-vis de cette plante hôte. Selon cette hypothèse, les femelles des cytotypes Q1-HR et Q2-ARW, qui ne montrent pas de préférence, pourraient être moins sélectives en raison de leurs cytotypes facilitant l'utilisation du lantana. Des résultats évocateurs ont été obtenus chez la mouche de l'olive *B. oleae*, chez qui un traitement antibiotique ciblant le microbiote intestinal est associé à une ponte moins fréquente sur les fruits. Il a été proposé

que ce comportement bénéficie à l'insecte, lui évitant de pondre sur des ressources nutritives difficile à utiliser en l'absence de symbiotes nutritionnels (Jose *et al.*, 2019). Les symbiotes secondaires pourraient influencer le comportement de ponte de *B. tabaci* à travers leur impact sur le métabolisme des acides aminés de leurs hôtes. Selon cette hypothèse, la plus forte production d'acides aminés essentiels observée chez les femelles des cytotypes Q1-HR et Q2ARW (Benhamou *et al.* 2021) pourrait expliquer pourquoi ils ne montrent pas de préférence entre des plantes ayant des quantités élevées (l'hibiscus) et faibles (le lantana) de ces acides aminés. Au contraire, la plus faible production d'acides aminés essentiels chez les femelles du cytotype Q1-HW (Benhamou *et al.* 2021) pourrait expliquer leur comportement d'évitement du lantana. Toutefois, les mécanismes par lesquels l'insecte pourrait *i*) détecter des variations dans son métabolisme des acides aminés et *ii*) intégrer cette information au niveau comportemental sont encore inconnus.

L'hypothèse selon laquelle l'effet du cytotype pourrait reposer sur l'influence des symbiotes secondaires sur le métabolisme des acides aminés de leurs hôtes est en partie corroborée par nos résultats obtenus sur des milieux nutritifs artificiels (**Chapitre 3**). En nous focalisant sur deux cytotypes, nous avons montré que la capacité des femelles du cytotype Q2-ARW à produire des œufs sur un milieu artificiel carencé en isoleucine, leucine et valine (ILV) était plus élevée que celles des femelles du cytotype Q1-HW. Ce résultat indique que les femelles du cytotype Q2-ARW sont relativement moins dépendantes d'un apport nutritionnel en ILV que les femelles du cytotype Q1-HW, ce qui pourrait expliquer les différences phénotypiques, métaboliques et comportementales observées entre ces deux cytotypes sur le lantana, une plante particulièrement pauvre en ILV.

L'ensemble des données obtenues au cours de cette thèse semble donc appuyer l'hypothèse selon laquelle la composition du cortège symbiotique secondaire influence l'exploitation de la plante hôte par *B. tabaci*, potentiellement à travers leur impact sur le métabolisme des acides aminés de leurs hôtes, comme présenté dans le modèle en **Figure 23**.

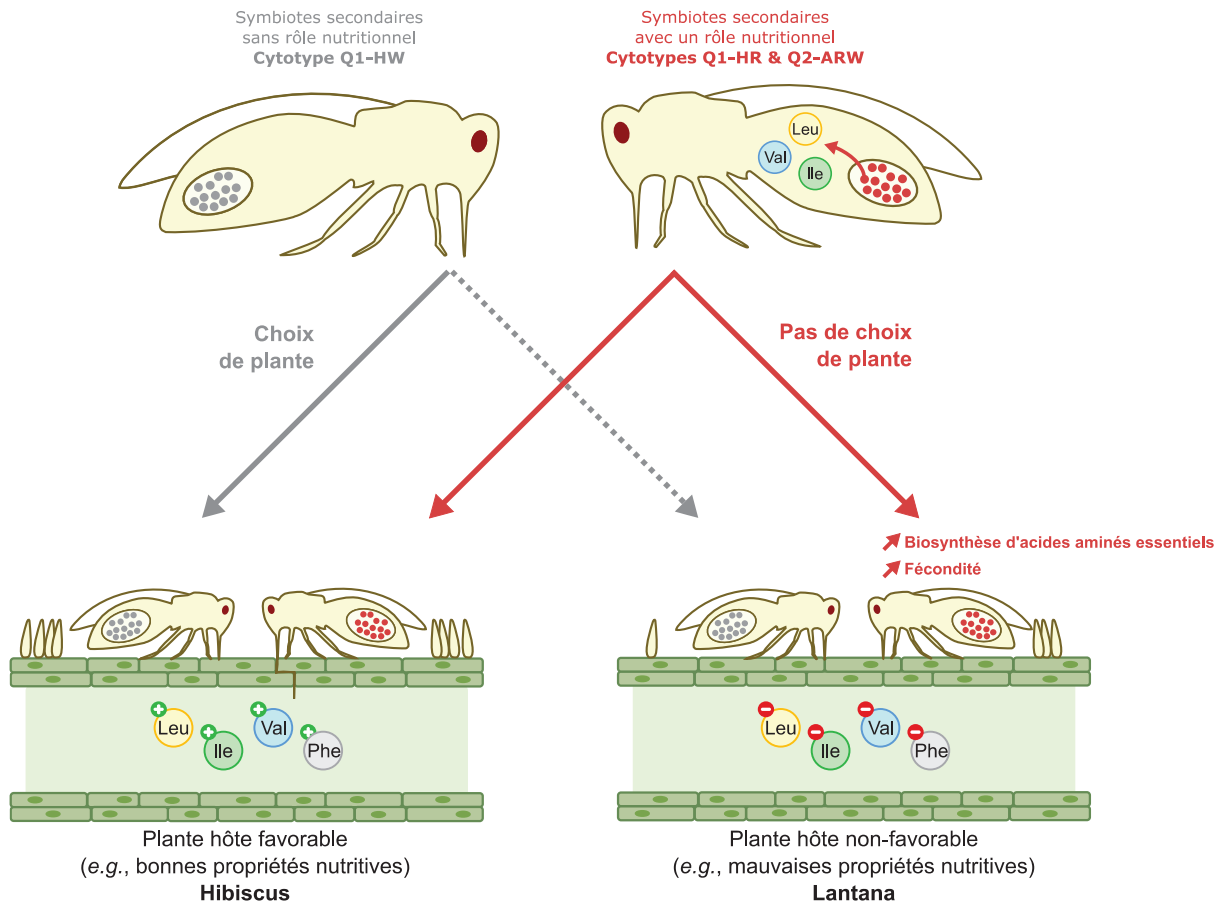


Figure 23. Modèle d'utilisation de la plante hôte facilitée par les symbiotes secondaires chez *B. tabaci*. Symbiotes secondaires : A, *Arsenophonus*, H ; *Hamiltonella* ; R, *Rickettsia* ; W, *Wolbachia*. Acides aminés : Ile, Isoleucine ; Leu, Leucine ; Phe, Phénylalanine ; Val, Valine.

L'effet observé du cyotype sur l'exploitation du lantana par *B. tabaci* pourrait résulter de l'incidence de l'ensemble de la communauté symbiotique sur l'hôte, ou de la présence/absence d'un seul symbiote secondaire. Le symbiote secondaire *Rickettsia*, associé aux deux cyotypes Q1-HR et Q2-ARW, est le seul symbiote dont la présence peut être corrélée à la capacité de l'insecte à utiliser le lantana. Il est intéressant de noter que ce symbiote a conservé le gène *ilvE* (Chen *et al.*, 2016) réalisant la dernière étape de la biosynthèse des trois acides aminés branchés isoleucine, leucine et valine (ILV), absente chez le symbiote primaire *Portiera* (Rao *et al.*, 2015). Ainsi, *Rickettsia* pourrait contribuer à la biosynthèse des ILV et apporter un avantage à son hôte lors d'une carence nutritionnelle impliquant ces acides aminés. Cette hypothèse permettrait d'expliquer la meilleure fécondité des femelles Q1-HR et Q2-ARW en comparaison aux femelles Q1-HW lorsqu'elles sont élevées sur le lantana (**Figure 23**). Ce potentiel rôle métabolique pourrait expliquer les avantages de performance associés à *Rickettsia*

(notamment, une meilleure fécondité) observé dans les populations naturelles de *B. tabaci* de l'espèce MEAM1 aux États-Unis (Himler *et al.*, 2011). Toutefois, ce phénotype est variable ; il n'a pas été retrouvé dans les populations de la même espèce en Israël, alors que les génomes des souches de *Rickettsia* dans ces deux pays sont très proches (Cass *et al.*, 2015), ni dans les populations des États-Unis une décennie plus tard (Bockoven *et al.*, 2019), suggérant des différences géographiques et temporelles dans l'interaction entre ce symbiote et son hôte. Cette variation dans le phénotype associé à l'infection par *Rickettsia* peut être expliquée par des différences dans le génotype nucléaire de l'hôte (Cass *et al.*, 2016; Hunter *et al.*, 2017), bien que les bases génétiques de cette variation ne soient pas connues. Dans l'ensemble de nos travaux, nous n'avons pas détecté d'interaction entre le génotype nucléaire de l'hôte et son cytotype, que ce soit sur l'utilisation et la sélection de la plante hôte par *B. tabaci*, ou sur sa capacité à faire face à une carence nutritionnelle en acides aminés. Ce résultat suggère que dans notre cas, la modification du génotype nucléaire de l'hôte n'a pas d'influence sur la réponse de l'insecte à la présence/absence de symbiotes secondaires.

Sous l'hypothèse que *Rickettsia* apporte un avantage à son hôte sur lantana, on pourrait s'attendre à trouver ce symbiote secondaire en plus grande prévalence dans les populations naturelles de *B. tabaci* colonisant le lantana que dans les populations colonisant d'autres plantes. Cependant, une étude de terrain réalisée au Burkina a rapporté une prévalence plus faible de *Rickettsia* dans les populations du groupe Q3 de l'espèce MED colonisant le lantana (26,6%) que celles trouvées sur le tabac (90%) (Gnankiné *et al.*, 2013). Des études supplémentaires seraient nécessaires pour aborder cette question plus en détail.

2.4. Le bactériocyte, une cellule somatique héritée maternellement

En plus des mitochondries et des symbiotes, une troisième entité génétique est transmise de manière verticale de la mère à ses descendants, pouvant ainsi se confondre à l'effet du cytotype : le bactériocyte et son génome nucléaire. En effet, chez *B. tabaci*, la transmission maternelle des symbiotes est assurée par l'intégration d'un bactériocyte de la mère dans chaque ovocyte (Buchner, 1965). Ce bactériocyte persiste dans l'embryon, se divise au cours du développement de l'insecte, puis est à nouveau transmis à la génération suivante (Luan *et al.*, 2016, 2018). Les bactériocytes forment ainsi une lignée cellulaire héritée exclusivement par la mère et génétiquement différenciée des autres cellules somatiques de l'insecte (Luan *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2019). Le génotype nucléaire des bactériocytes des femelles F1 n'est donc pas hybride, contrairement au génotype nucléaire de leurs autres cellules somatiques.

Le bactériocyte occupe une place importante dans la symbiose, puisqu'il est le médiateur des échanges métaboliques entre l'hôte et ses symbiotes en réponse aux signaux arrivant à l'holobionte depuis le milieu nutritionnel (Douglas, 2014; Upadhyay *et al.*, 2015, Colella *et al.*, 2018). Cette question a été abordée en détail chez le puceron du pois *A. pisum*, chez qui la biosynthèse des acides aminés essentiels est réalisée par le métabolisme intégré du puceron et de son symbiote nutritionnel *B. aphidicola* (Shigenobu *et al.*, 2000; Wilson *et al.*, 2010; Hansen et Moran, 2011). Comme évoqué précédemment, *B. aphidicola* a des capacités de régulation de la biosynthèse des acides aminés réduites (Reymond *et al.*, 2006), et qui ne concernent que certains acides aminés (partie 2.2 de ce chapitre). Pour d'autres acides aminés (tyrosine et phénylalanine), cette biosynthèse est principalement régulée par l'hôte, qui peut réguler au niveau transcriptionnel les gènes (eucaryotes) appartenant aux voies de biosynthèse partagées avec les gènes du symbiote qui, eux, ne sont pas régulés (Rabatel *et al.*, 2013). D'autres niveaux de régulation peuvent impliquer les transporteurs de la membrane du bactériocyte qui contrôlent la quantité de précurseurs métaboliques (*e.g.*, la glutamine) disponibles dans le cytoplasme des bactériocytes pour la biosynthèse des acides aminés essentiels par *B. aphidicola* (Price *et al.*, 2014; Feng *et al.*, 2019). *Portiera* ayant perdu les capacités de réguler la biosynthèse des acides aminés (Zhu *et al.*, 2019), cette régulation pourrait être réalisée par *B. tabaci*, par le biais de transporteurs membranaires (Upadhyay *et al.*, 2015) ou de la régulation des gènes de l'hôte qui complètent les voies de biosynthèse du symbiote (Luan *et al.*, 2015; Bao *et al.*, 2021).

Malheureusement, nous ne disposons pas d'informations sur la variabilité qu'il pourrait exister entre les bactériocytes de nos trois lignées en termes de contenu génétique et d'éléments de régulation génétique. Toutefois, sous l'hypothèse que le génome bactériocytaire est davantage similaire entre deux cytotypes du même haplotype mitochondrial, on devrait s'attendre à ce que si le bactériocyte influence l'utilisation de la plante hôte, les cytotypes Q1-HW et Q1-HR présentent un phénotype similaire. Or ce n'est pas ce qui est observé : Q1-HW et Q1-HR présentent des phénotypes différents tandis que le cytotype Q1-HR présente en général le même phénotype que Q2-ARW ! Ainsi l'implication du génome des bactériocytes dans les différences observées entre cytotypes semble peu probable. Toutefois cette conclusion repose sur une hypothèse très forte. En effet, le degré d'apparement entre cytotypes n'est pas garant du degré de similarité entre les génomes de leurs bactériocytes : on ne connaît peu de chose sur l'évolution indépendante de chaque lignée bactériocytaire !

Si l'implication du génome du bactériocyte semble peu probable, ce dernier pourrait contribuer à l'exploitation de la plante hôte de manière plus indirecte, par le biais de différentes formes de régulations (transcriptionnelle, traductionnelle, enzymatique, épigénétique) sous le contrôle de l'hôte. Par exemple, chez *A. pisum*, les réponses transcriptionnelles et cellulaires des bactériocytes semblent jouer un rôle central dans la régulation de la physiologie de l'insecte et dans sa capacité à faire face des carences nutritionnelles impliquant la tyrosine ou la phénylalanine (Colella *et al.*, 2018). Chez *B. tabaci*, le contrôle du dialogue moléculaire par l'hôte est facilité par la localisation des symbiotes primaires et secondaires dans les mêmes bactériocytes (Gottlieb *et al.*, 2008). Il est notamment envisageable que le bactériocyte régule différemment le dialogue moléculaire entre le corps de l'insecte, le symbiote primaire et les symbiotes secondaires lorsque le cortège symbiotique n'est pas identique. Par exemple, il existe une redondance fonctionnelle entre *B. tabaci* et le symbiote secondaire *Hamiltonella* pour la complémentation de la voie de biosynthèse de la vitamine B8 (Biotine) de *Portiera*. En effet les génomes de *B. tabaci* (Chen *et al.*, 2016) et d'*Hamiltonella* (Rao *et al.*, 2015) possèdent tous les deux les gènes *bioA*, *bioB* et *bioD* de la voie de biosynthèse de la biotine, absents du génome de *Portiera* (Rao *et al.*, 2015) (voir aussi partie '3.3. Rôle nutritionnel des symbiotes secondaires' de l'introduction de ce manuscrit, **Figure 12**). L'élimination d'*Hamiltonella* par traitement antibiotique a été associée à une augmentation de l'expression des gènes *bioA*, *bioB*, *bioD* du bactériocyte, qui pourrait compenser le manque de biotine produit par *Hamiltonella* (Ren *et al.*, 2020). A travers cet exemple, il est possible d'émettre l'hypothèse que la présence d'un symbiote secondaire influence la régulation des voies de biosynthèse des nutriments essentiels sous le contrôle de l'hôte, et les capacités métaboliques de l'insecte. Ainsi, le bactériocyte et les symbiotes secondaires pourraient contribuer de manière jointe à l'exploitation de la plante hôte par *B. tabaci* (**Figure 24**).

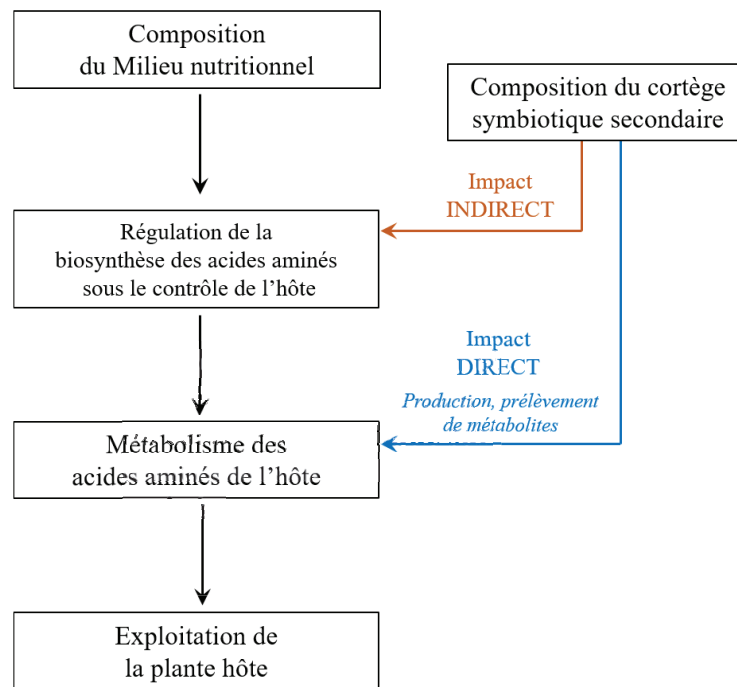


Figure 24. Impacts direct et indirect des symbiotes secondaires sur le métabolisme des acides aminés de *B. tabaci*.

2.5. Effets maternels et considérations méthodologiques

Enfin, nous ne pouvons pas exclure la possibilité que les différences observées chez les femelles F1 soient la manifestation d'un effet maternel qui se confondrait à l'effet du cytotype. Les effets maternels peuvent être définis comme l'influence causale du phénotype de la mère sur le phénotype de ses descendants (Mousseau et Fox, 1998a; English *et al.*, 2015). Le phénotype maternel, comme la plupart des traits, peut lui-même dépendre de variations génétiques et environnementales. Dans ce cadre, le phénotype d'un individu n'est donc pas seulement déterminé par son propre génotype et son environnement, mais aussi par le génotype (effet maternel 'génétique') et l'environnement de la mère (effet maternel 'environnemental') (Mousseau et Fox, 1998a; English *et al.*, 2015). Chez les insectes, les mécanismes sous-jacents à cette influence maternelle peuvent, entre autres, prendre la forme de facteurs cytoplasmiques transmis à l'œuf par la mère (par exemple, des protéines, hormones ou ARN messagers) ou d'états épigénétiques (comme la méthylation de l'ADN) qui influencent, *in fine*, le développement de sa descendance (Mousseau et Fox, 1998b; English *et al.*, 2015). Notons que ces effets maternels concernent le cytoplasme et le noyau de l'ovocyte, mais aussi ceux du

bactériocyte, puisqu'il est transmis par la mère. Les protocoles développés au cours de cette thèse ont considéré l'importance des effets maternels, et ont été pensés pour en minimiser l'éventualité. Notamment, toutes les lignées parentales ont été maintenues dans les mêmes conditions d'élevage (plante hôte, température, hygrométrie, photopériode), limitant ainsi l'influence de l'environnement des mères F0 sur les traits étudiés chez leur descendantes F1. En revanche, nous ne pouvons pas exclure une potentielle influence du génotype des mères sur le phénotype de leurs descendantes (English *et al.*, 2015).

3. La symbiose un moteur de spéciation ?

La compréhension des processus sous-jacents à la diversification et à la spéciation, c'est-à-dire l'émergence d'un isolement reproductif entre populations, est une question centrale en biologie évolutive. L'idée que la symbiose puisse contribuer à ce phénomène a gagné en importance depuis le début du 20^{ième} siècle (Brucker et Bordenstein, 2012; Vavre et Kremer, 2014; Shropshire et Bordenstein, 2016), mais il existe encore peu de démonstrations empiriques soutenant cette hypothèse. Les résultats obtenus dans ce projet ouvrent la voie à l'étude de l'implication des symbiotes secondaires dans la diversification du complexe d'espèces de *B. tabaci*. D'autres approches pourraient également être envisagées pour mieux cerner la contribution de ces symbiotes à ce phénomène.

Contribution des symbiotes à l'adaptation écologique de l'hôte

Les symbiotes pourraient contribuer à l'émergence d'un isolement reproductif lorsque ces derniers sont impliqués dans l'adaptation de leur hôte à la niche écologique, et que l'accouplement a lieu dans cette niche (Schluter, 2001; Bird *et al.*, 2012). C'est le cas chez *B. tabaci*, chez qui l'accouplement et la ponte ont lieu sur la plante où les individus se nourrissent (Stansly *et al.* 2010). Au cours de ce projet, nous avons montré que le cytotype influence l'utilisation (**Chapitre 1**) et la sélection (**Chapitre 2**) de la plante hôte. Ces cytotypes étant associés à des cortèges de symbiotes secondaires différents, il est très probable que ces derniers soient responsable des différences observées entre cytotypes. Il est possible qu'en modulant la gamme de plantes hôtes de *B. tabaci*, et selon la disponibilité de ces plantes dans l'environnement, les symbiotes puissent contribuer à limiter le flux de gènes entre populations. Pour étudier cette question plus en détail, il serait toutefois nécessaire d'étendre les recherches à une plus grande diversité de cytotypes et de plantes hôtes.

Contribution des symbiotes au choix du partenaire sexuel

Les symbiotes pourraient également contribuer à l'isolement reproductif lorsque des individus manifestent une préférence pour un partenaire sexuel partageant le même statut d'infection (*i.e.*, l'homogamie positive) (Panhuis *et al.*, 2001, Shropshire et Bordenstein, 2016). Par exemple, des travaux menés chez la drosophile *D. melanogaster* ont montré que les individus des deux sexes ont une préférence pour les partenaires sexuels présentant un microbiote intestinal similaire (Sharon *et al.*, 2010; Najarro *et al.*, 2015). De manière similaire, chez le complexe d'espèces *D. paulistorum*, les femelles préfèrent s'accoupler avec un mâle

infecté par la même souche de la bactérie intracellulaire *Wolbachia* sp. (Miller *et al.*, 2010; Schneider *et al.*, 2019). Il a notamment été proposé que les symbiotes puissent influencer le comportement de leur hôte en modifiant l'émission et la perception des signaux impliqués dans le choix du partenaire (Miller *et al.*, 2010; Sharon *et al.*, 2010; Najarro *et al.*, 2015; Schneider *et al.*, 2019; pour une revue traitant de l'influence des symbiotes microbiens sur la production de phéromones par les insectes, lire aussi Engl et Kaltenpoth, 2018).

L'influence des symbiotes sur le choix du partenaire sexuel chez *B. tabaci* n'a pas encore été étudiée, mais c'est un modèle qui s'avère particulièrement intéressant pour explorer cette question. En effet, nous avons démontré que le cytotype, et potentiellement les symbiotes secondaires, influencent le métabolisme des acides aminés libres de *Bemisia tabaci*. (Cf. **Chapitre 1**). Or, chez les insectes, la majorité des phéromones (y compris les phéromones sexuelles) sont synthétisées *de novo*, et cette synthèse dépend de précurseurs métaboliques comme des acides gras, des terpénoïdes ou des acides aminés libres (Tillman *et al.*, 1999). Il est donc envisageable qu'à travers leur influence sur le métabolisme des acides aminés libres, les symbiotes secondaires modifient la production de phéromones impliquées dans le choix du partenaire sexuel chez *B. tabaci*.

Deux approches pourraient notamment être développées pour étudier l'influence des symbiotes secondaires sur le choix du partenaire sexuel chez *B. tabaci*. Dans un premier temps, il serait intéressant d'analyser l'attractivité à distance d'un individu pour le sexe opposé en fonction de leurs cortèges symbiotiques respectifs en utilisant, par exemple, un olfactomètre à choix multiples. Chez *B. tabaci*, il semblerait que la recherche du partenaire soit effectuée par le mâle (Li *et al.*, 1989). Ainsi, un mâle avec un cytotype donné pourrait par exemple se voir proposer une femelle avec le même cytotype et une femelle avec un cytotype différent. Cela permettrait de déterminer si *B. tabaci* se base sur des signaux à longue distance pour identifier ses partenaires, et si le cytotype a une influence sur le choix du partenaire. Des observations d'accouplement pourraient ensuite permettre de déterminer si et à quelle étape de la parade les symbiotes secondaires interfèrent avec le choix du partenaire sexuel du mâle et de la femelle. Chez *B. tabaci*, le comportement de parade a été décrit pour la première fois chez l'espèce New World (anciennement, le biotype A). Il se divise en 5 phases successives (Li *et al.*, 1989) (**Figure 25**). L'approche initiale mâle-femelle donne lieu à l'alignement parallèle des deux partenaires (**phase 1**). Elle est suivie du tambourinage antennaire de la femelle par le mâle, qui ondule également son abdomen de haut en bas (**phase 2**). Occasionnellement, la **phase 2** peut donner lieu à une **phase 3** facultative (15% des accouplements), le '*Body pushing*', au cours de

laquelle le mâle bouscule la femelle. S'en suit une **phase 4** (directement après la **phase 2** ou, le cas échéant, après la **phase 3**), où les organes sexuels du mâle et de la femelle entrent en contact. La **phase 5** correspond à l'accouplement. A chaque étape, le mâle peut être rejeté par la femelle. Il semble exister des variations entre espèces de *B. tabaci*. Par exemple chez l'espèce MEAM1, le tambourinage antennaire et l'ondulation de l'abdomen (**phase 2**) n'ont pas lieu en même temps et constituent deux phases successives distinctes. De plus, il n'a pas été observé de phase 3 'Body pushing' (Perring et Symmes, 2006). Ainsi, une étape préliminaire à ce travail serait de caractériser finement le comportement de parade des lignées disponibles au laboratoire, appartenant à l'espèce MED.

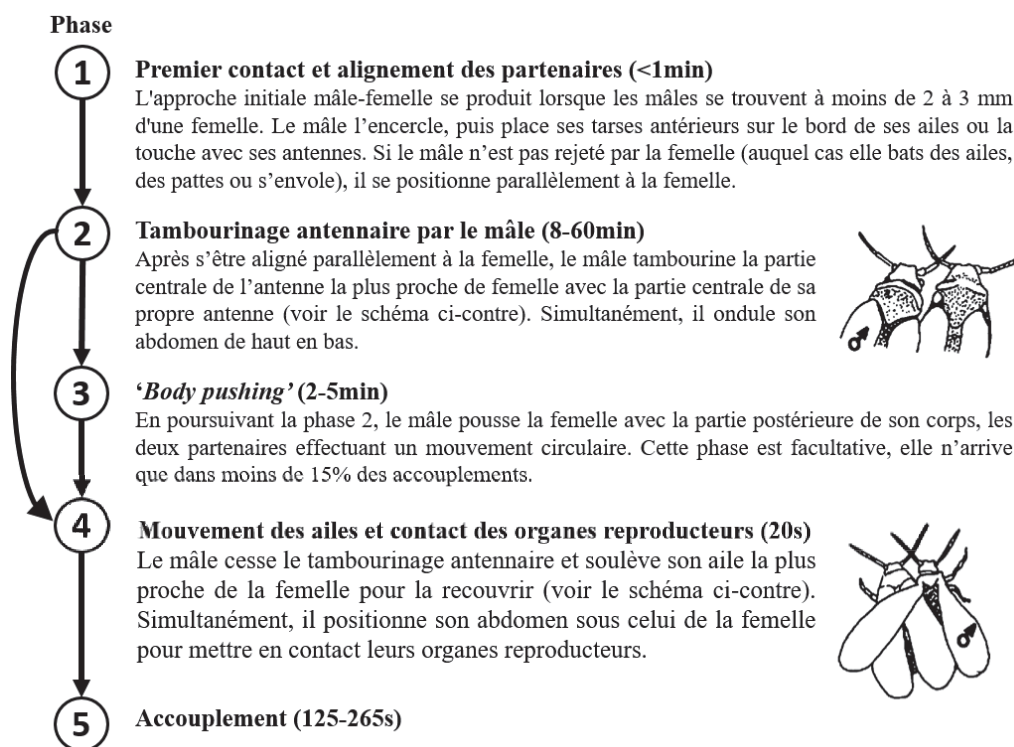


Figure 25. Phases du comportement de parade de *B. tabaci* New World (Adapté de Li *et al.*, 1989).

Contribution des symbiotes à l'isolement post-reproductif

Enfin, les symbiotes pourraient contribuer à l'isolement post-reproductif par des mécanismes affectant la viabilité ou la stérilité des hybrides issus du croisement entre parents associés à différents symbiotes (Brucker et Bordenstein, 2012; Vavre et Kremer, 2014).

L'incompatibilité médiée par les symbiotes la plus connue est l'incompatibilité cytoplasmique bidirectionnelle entraînant la non-viabilité des hybrides issus de croisements entre individus infectés par différentes souches de *Wolbachia* (Werren *et al.*, 2008). Chez les insecte diploïdes, l'incompatibilité cytoplasmique est caractérisée par la mort des deux sexes, et n'est donc pas associée à un biais du sexe ratio (Werren *et al.*, 2008). En revanche, chez les insectes haplo-diploïdes arrhénotoques (*i.e.*, chez qui les mâles sont haploïdes, issus d'œufs non fécondés) comme *B. tabaci*, un tel phénomène pourrait se manifester par une mortalité des femelles issues de la fécondation (Breeuwer, 1997; Vavre *et al.*, 2001; Mouton *et al.*, 2005), et/ou leur développement en mâles fonctionnels (Breeuwer et Werren, 1990 ; Mouton *et al.* 2005). Dans les deux cas, il se traduirait par un sex-ratio biaisé vers les mâles à la génération F1. Toutefois, aucun des symbiotes de *B. tabaci* n'est connu pour manipuler la reproduction de son hôte, et nous n'avons pas remarqué de tel phénomène lors de la réalisation des croisements F1.

Il a récemment été proposé que les symbiotes puissent participer à l'isolement reproductif post-zygotique de manière plus indirecte. En effet, dans l'hypothèse très forte où la sélection exercée sur les interactions entre l'hôte et ses symbiotes conduit à des coadaptations entre ces derniers, la rupture de ces coadaptations pourrait avoir des effets négatifs sur les hybrides (Brucker et Bordenstein, 2012; Vavre et Kremer, 2014). Cette hypothèse a notamment été explorée chez des guêpes du genre *Nasonia* (Brucker et Bordenstein, 2013). Le microbiote intestinal de ces guêpes (composé majoritairement de 10 genres bactériens), est propre à chaque espèce au sein de ce genre. Les hybrides issus des croisements entre ces espèces présentent un taux de mortalité larvaire important, associé à une altération du microbiote intestinal en termes de d'abondance et de diversité bactérienne, en comparaison aux individus issus de croisements entre mâles et femelles de la même espèce (Brucker et Bordenstein, 2013). Brucker et Bordenstein ont montré que la mortalité de ces hybrides pouvait être secourue par un traitement antibiotique ciblant le microbiote intestinal. En revanche, l'inoculation de ces hybrides traités aux antibiotiques avec un nouveau microbiote rétablit le fort taux de mortalité, mettant en lumière le rôle crucial du microbiote dans ce phénotype (Brucker et Bordenstein, 2013). Il a

ainsi été proposé que l'altération du microbiote intestinal est à l'origine de la mortalité des hybrides, et que cette altération est causée par la perturbation des interactions génétiques impliquées dans le contrôle du microbiote par l'hôte (Brucker et Bordenstein, 2013). Dans l'hypothèse où il existe des coadaptations entre le génotype nucléaire de *B. tabaci* et son cortège symbiotique, les nouvelles associations Génotype(Cytotype), comme par exemple les femelles F1 AB(Q1-HW) et AC(Q1-HW), devraient avoir une performance plus faible que l'association Génotype(Cytotype) d'origine, c'est-à-dire celle de la lignée maternelle AA(Q1-HW). Or, pour tous les traits mesurés et pour un même cytotype, nous n'avons pas observé d'effet du génotype. Plus particulièrement, nous n'avons pas mis en évidence une performance moindre des hybrides, c'est-à-dire pas de coût apparent associé à la rupture de potentielles coadaptations entre les compartiments nucléaires et cytoplasmiques de nos lignées. Toutefois, nous ne disposons pas d'information quant à la stabilité et l'évolution de ces nouvelles associations au cours des générations suivantes.

Ce dernier aspect est notamment étudié au sein du projet ANR de type PRC 'Hmicmac' (Coadaptations hôte-microbiote : mécanismes et conséquences, ANR-16-CE02-0014) développé de manière conjointe par mes équipes d'accueil, en collaboration avec l'Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes (IGEPP) de Rennes. Ce projet a pour objectif de déterminer les conséquences de la rupture de potentielles coadaptations génétiques entre l'hôte et ses symbiotes chez deux insectes hémiptères phloémophages, *B. tabaci* et *A. pisum*. De nouvelles associations Génotype(Cytotype) ont été obtenues chez *B. tabaci* par hybridation, comme je l'ai fait au cours de mon projet de thèse. Les conséquences de la rupture de potentielles coadaptations génétique entre l'hôte et ses symbiotes ont été évaluées sur le plan phénotypique (fécondité, taux d'éclosion des œufs) et le plan physiologique (profil en acides aminés libres) à la première génération, puis à intervalles réguliers pendant plus de 50 générations. Ces analyses ont été couplées à des approches transcriptomiques réalisées sur l'hôte et ses symbiotes afin de déterminer les mécanismes sous-jacents à ces coadaptations.

4. Conclusion

S'il est aujourd'hui admis que la symbiose représente une source innovation évolutive, l'influence des symbiotes microbiens dans l'adaptation de leur hôte à de nouvelles conditions environnementales sont encore peu connues. L'objectif de cette thèse était de mieux comprendre l'impact des symbiotes sur l'écologie et l'évolution de leur hôte, à travers leur influence sur l'exploitation de la plante hôte par les insectes phytophages

Nos travaux menés sur l'aleurode du tabac *B. tabaci* et son cortège de bactéries symbiotiques nous ont permis de répondre à cet objectif. Pour la première fois, nous avons montré que le cytotype influence l'utilisation et la sélection de la plante hôte chez cet insecte. Le cytotype étant associé à différents cortèges de symbiotes secondaires, nos travaux suggèrent que l'implication de ces symbiotes dans l'exploitation de la plante hôte par *B. tabaci* est très probable. De ces observations émerge la question des mécanismes sous-jacents à l'influence du cytotype sur le phénotype de l'insecte. Par le biais d'analyses métaboliques, nous avons montré que les plantes hôtes de *B. tabaci* représentent un environnement nutritif contrasté, et que certains cytotypes pourraient faciliter l'exploitation de certaines de ces plantes, potentiellement via l'impact des symbiotes sur les capacités métaboliques de leurs hôtes. Ce travail demeure toutefois préliminaire, et de futures recherches devraient envisager de déterminer les influences respectives de chaque symbiote secondaire sur le phénotype de leurs hôtes. L'influence du cytotype sur l'exploitation de la niche écologique par *B. tabaci* évoque également la question de l'influence des symbiotes sur la diversification du complexe d'espèce de *B. tabaci*. Cependant, pour aborder rigoureusement cette question, il serait nécessaire d'étendre les études menées dans cette thèse à une plus large diversité de cytotypes et de plantes hôtes.

Ces travaux apportent de nouveaux éléments de compréhension de l'influence des microorganismes sur divers aspects de leurs hôtes : leur physiologie, comportement, écologie et évolution. Pour reprendre l'expression utilisée par Scott F. Gilbert (Gilbert, 2012) à propos de la symbiose, il semblerait bien que nous n'ayons « jamais été des individus ».

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ahmed, M. Z. *et al.* (2013) ‘Evidence for horizontal transmission of secondary endosymbionts in the *Bemisia tabaci* cryptic species complex’, *PLoS ONE*, 8(1), p. e53084. doi: 10.1371/journal.pone.0053084.
- Ahmed, M. Z. *et al.* (2015) ‘The intracellular bacterium *Wolbachia* uses parasitoid wasps as phoretic vectors for efficient horizontal transmission’, *PLoS Pathogens*, 11(2), p. e1004672. doi: 10.1371/journal.ppat.1004672.
- Akami, M. *et al.* (2019) ‘Intestinal bacteria modulate the foraging behavior of the oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae)’, *PLoS ONE*, 14(1), p. e0210109. doi: doi.org/10.1371/journal.pone.0210109 Editor:
- Akman, L. *et al.* (2002) ‘Genome sequence of the endocellular obligate symbiont of tsetse flies, *Wigglesworthia glossinidia*’, *Nature genetics*, 32(november), pp. 402–407. doi: 10.1038/ng986.
- Angelella, G. *et al.* (2018) ‘Endosymbionts differentially alter exploratory probing behavior of a nonpersistent plant virus vector’, *Microbial Ecology*. *Microbial Ecology*, 76(2), pp. 453–458. doi: 10.1007/s00248-017-1133-5.
- Bandi, C. *et al.* (1995) ‘The establishment of intracellular symbiosis in an ancestor of cockroaches and termites’, *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 295, pp. 293–299. doi: 10.1098/rspb.1995.0043.
- Bao, X. *et al.* (2021) ‘Lysine provisioning by horizontally acquired genes promotes mutual dependence between whitefly and two intracellular symbionts’, *PLoS Pathogens*, 17(11), pp. 1–23. doi: 10.1371/journal.ppat.1010120.
- De Barro, P. J. *et al.* (2011) ‘*Bemisia tabaci*: a statement of species status’, *Annual Review of Entomology*, 56(1), pp. 1–19. doi: 10.1146/annurev-ento-112408-085504.
- de Bary, A. (1879) ‘Die Erscheinung der Symbiose [Manifestations de symbiose]’, in Trubner, V. von K. J. (ed.) *Die Erscheinung der Symbiose: Vortrag, gehalten auf der Versammlung Deutscher Naturforscher und Aerzte zu Cassel*. Strassburg, pp. 1–30.
- Baumann, P. (2005) ‘Biology of endosymbionts of plant sap-sucking insects’, *Annual Review of microbiology*, 59, pp. 155–189. doi: 10.1146/annurev.micro.59.030804.121041.
- Benhamou, S. *et al.* (2021) ‘Cytotype affects the capability of the whitefly *Bemisia tabaci* MED species to feed and oviposit on an unfavorable host plant’, *mBio*. American Society for Microbiology, 12(6), pp. 1–16. doi: 10.1128/mBio.00730-21.
- Bennett, G. M. and Moran, N. A. (2013) ‘Small, Smaller, Smallest: The Origins and Evolution of Ancient’, *Genome Biology and Evolution*, 5(9), pp. 1675–1688. doi: 10.1093/gbe/evt118.
- Bing, X. *et al.* (2013) ‘Characterization of a newly discovered symbiont of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae)’, *Applied and Environmental Microbiology*, 79(2), pp. 569–575. doi: 10.1128/AEM.03030-12.
- Bird, C. E. *et al.* (2012) ‘Sympatric Speciation in the Post “Modern Synthesis” Era of

- Evolutionary Biology’, *Evolutionary Biology*, 39(2), pp. 158–180. doi: 10.1007/s11692-012-9183-6.
- Blackburn, M. B. *et al.* (2005) ‘The broadly insecticidal *Photorhabdus luminescens* toxin complex a (Tca): activity against the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, and sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci*’, *Journal of Insect Science*, 5(32), pp. 1–11. doi: 10.1093/jis/5.1.32.
- Blackman, R. L. and Cahill, M. (1998) ‘The karyotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae)’, *Bulletin of entomological research*, 88(2), pp. 213–215. doi: 10.1017/s0007485300025785.
- Bockoven, A. A. *et al.* (2019) ‘What goes up might come down: the spectacular spread of an endosymbiont is followed by its decline a decade later.’, *Microbial Ecology*. *Microbial Ecology*, 79, pp. 482–494. doi: 10.1007/s00248-019-01417-4.
- Bonato, O. *et al.* (2007) ‘Modelling temperature-dependant bionomics of *Bemisia tabaci* (Q-biotype)’, *Physiological Entomology*, 32(1), pp. 50–55. doi: 10.1111/j.1365-3032.2006.00540.x.
- Bordenstein, S. R. and Theis, K. R. (2015) ‘Host biology in light of the microbiome: Ten principles of holobionts and hologenomes’, *PLoS Biology*, 13(8), pp. 1–23. doi: 10.1371/journal.pntd.0005749.
- Boykin, L. M. *et al.* (2012) ‘Species delimitation and global biosecurity’, *Evolutionary Bioinformatics*, 8, pp. 1–37. doi: 10.4137/EBO.S8532.
- Breeuwer, J. A. J. (1997) ‘Wolbachia and cytoplasmic incompatibility in the spider mites *Tetranychus urticae* and *T. turkestanii*’, *Heredity*, 79(June 1996), pp. 41–47. doi: 10.1038/hdy.1997.121.
- Breeuwer, J. A. J. and Werren, J. H. (1990) ‘Microorganisms associated with chromosome destruction and reproductive isolation between two insect species’, *Nature*, 346, pp. 558–560. doi: 10.1038/346558a0.
- Brinza, L., Calevro, F. and Charles, H. (2013) ‘Genomic analysis of the regulatory elements and links with intrinsic DNA structural properties in the shrunken genome of *Buchnera*’, *BMC Genomics*, 14(73), pp. 1–15. doi: 10.1186/1471-2164-14-73.
- Brucker, R. M. and Bordenstein, S. R. (2012) ‘Speciation by symbiosis’, *Trends in Ecology and Evolution*, 27(8), pp. 443–451. doi: 10.1016/j.tree.2012.03.011.
- Brucker, R. M. and Bordenstein, S. R. (2013) ‘The hologenomic basis of speciation : gut bacteria cause hybrid lethality in the genus *Nasonia*’, *Science*, 341, pp. 667–669. doi: 10.1126/science.1240659.
- Brumin, M., Kontsedalov, S. and Ghanim, M. (2011) ‘*Rickettsia* influences thermotolerance in the whitefly *Bemisia tabaci* B biotype’, *Insect Science*, 18(1), pp. 57–66. doi: 10.1111/j.1744-7917.2010.01396.x.
- Brumin, M., Levy, M. and Ghanim, M. (2012) ‘Transovarial transmission of *Rickettsia* spp. and organ-specific infection of the whitefly *Bemisia tabaci*’, *Applied and Environmental Microbiology*, 78(16), pp. 5565–5574. doi: 10.1128/AEM.01184-12.
- Buchner, P. (1965) *Endosymbioses of animals with plant microorganisms*, John Wiley & Sons, Inc. New York.

- Burke, G., Fiehn, O. and Moran, N. (2010) 'Effects of facultative symbionts and heat stress on the metabolome of pea aphids', *The ISME Journal*. Nature Publishing Group, 4(2010), pp. 242–252. doi: 10.1038/ismej.2009.114.
- Byrne, D. N. and Bellows, T. S. J. (1991) 'Whitefly biology', *Annual Review of Entomology*, 36(81), pp. 431–457. doi: 10.1146/annurev.en.36.010191.002243.
- Caillaud, M. C. and Via, S. (2000) 'Specialized feeding behavior influences both ecological specialization and assortative mating in sympatric host races of pea aphids', *The American Naturalist*, 156(6), pp. 606–621. doi: 10.1086/316991.
- Calatayud, P.-A. (2000) 'Influence of linamarin and rutin on biological performances of *Phenacoccus manihoti* in artificial diets', *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 96, pp. 81–86. doi: 10.1046/j.1570-7458.2000.00681.x.
- Calatayud, P.-A. and Rahbe, Y. (1998) 'Rearing the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti*, on a defined diet', *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 86, pp. 325–329. doi: 10.1023/A.
- Caspi-Fluger, A. *et al.* (2011) '*Rickettsia* “in” and “out”: Two different localization patterns of a bacterial symbiont in the same insect species', *PLoS ONE*, 6(6), pp. 4–9. doi: 10.1371/journal.pone.0021096.
- Caspi-Fluger, A. *et al.* (2012) 'Horizontal transmission of the insect symbiont *Rickettsia* is plant-mediated', *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1734), pp. 1791–1796. doi: 10.1098/rspb.2011.2095.
- Cass, B. N. *et al.* (2015) 'Dynamics of the endosymbiont *Rickettsia* in an insect pest', *Invertebrate microbiology*, 70(February), pp. 287–297. doi: 10.1007/s00248-015-0565-z.
- Cass, B. N. *et al.* (2016) 'Conditional fitness benefits of the *Rickettsia* bacterial symbiont in an insect pest', *Oecologia*. Springer Berlin Heidelberg, 180(1), pp. 169–179. doi: 10.1007/s00442-015-3436-x.
- Casteel, C. L. *et al.* (2012) 'Manipulation of plant defense responses by the tomato psyllid (*Bactericerca cockerelli*) and its associated endosymbiont *Candidatus Liberibacter Psyllaurosus*', *PLoS ONE*, 7(4), pp. 1–10. doi: 10.1371/journal.pone.0035191.
- Cattell, J. *et al.* (2016) 'Wolbachia-mediated protection against viruses in the invasive pest *Drosophila suzukii*', *Insect molecular biology*, 25(5), pp. 595–603. doi: 10.1111/imb.12245.
- Champion de Crespigny, F. E., Pitt, T. D. and Wedell, N. (2006) 'Increased male mating rate in *Drosophila* is associated with *Wolbachia* infection', *Evolutionary Biology*, 19(2006), pp. 1964–1972. doi: 10.1111/j.1420-9101.2006.01143.x.
- Charles, H. *et al.* (1997) 'Genome size characterization of the principal endocellular symbiotic bacteria of the weevil *Sitophilus oryzae*, using pulsed field Ggl electrophoresis', *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 27(4), pp. 345–350. doi: 10.1016/S0965-1748(97)00005-2.
- Chen, W. *et al.* (2016) 'The draft genome of whitefly *Bemisia tabaci* MEAM1, a global crop pest, provides novel insights into virus transmission, host adaptation, and insecticide resistance', *BMC Biology*. BMC Biology, 14(110), pp. 1–15. doi: 10.1186/s12915-016-0321-y.

- Chiel, E. *et al.* (2009) ‘Assessments of fitness effects by the facultative symbiont *Rickettsia* in the sweetpotato whitefly (Hemiptera: Aleyrodidae)’, *Ecology and population biology*, 102(3), pp. 413–418. doi: 10.1016/S0965-1748(97)00005-2.
- Chiu, L. and Gilbert, S. F. (2015) ‘The birth of the holobiont: multi-species birthing through mutual scaffolding and niche construction’, *Biosemiotics*, 8(2), pp. 191–210. doi: 10.1007/s12304-015-9232-5.
- Chrostek, E. *et al.* (2017) ‘Horizontal transmission of intracellular insect symbionts via plants’, *Frontiers in Microbiology*, 8(2237), pp. 1–8. doi: 10.3389/fmicb.2017.02237.
- Chu, D. *et al.* (2008) ‘Genetic differentiation of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biotype Q based on mitochondrial DNA markers’, *Insect Science*, 15, pp. 115–123. doi: 10.1111/j.1744-7917.2008.00191.x.
- Clary, D. O. and Wolstenholme, D. R. (1985) ‘The mitochondrial DNA molecule of *Drosophila yakuba* : nucleotide sequence, gene organization, and genetic code’, *Journal of Molecular Evolution*, 22(3), pp. 252–271. doi: 10.1007/BF02099755.
- De Clerck, C. *et al.* (2015) ‘A metagenomic approach from aphid ’ s hemolymph sheds light on the potential roles of co-existing endosymbionts’, *Microbiome*. *Microbiome*, 3(63), pp. 1–11. doi: 10.1186/s40168-015-0130-5.
- Colella, S. *et al.* (2018) ‘Bacteriocyte Reprogramming to Cope With Nutritional Stress in a Phloem Sap Feeding Hemipteran , the Pea Aphid *Acyrtosiphon pisum*’, *Frontiers in Physiology*, 9(October), pp. 1–18. doi: 10.3389/fphys.2018.01498.
- Colvin, J. *et al.* (2004) ‘Dual begomovirus infections and high *Bemisia tabaci* populations : two factors driving the spread of a cassava mosaic disease pandemic’, *Plant Pathology*, 53, pp. 577–584. doi: 10.1111/j.1365-3059.2004.01062.x.
- Corbin, C. *et al.* (2017) ‘Heritable symbionts in a world of varying temperature’, *Heredity*. Nature Publishing Group, 118(1), pp. 10–20. doi: 10.1038/hdy.2016.71.
- Cox, D. R. (1972) ‘Regression Models and Life-Tables’, *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, 34(2), pp. 187–202. doi: 10.1111/j.2517-6161.1972.tb00899.x.
- Crafts-Brandner, S. J. (2002) ‘Plant nitrogen status rapidly alters amino acid metabolism and excretion in *Bemisia tabaci*’, *Journal of Insect Physiology*, 48(1), pp. 33–41. doi: 10.1016/S0022-1910(01)00140-8.
- Crawley, M. J. (2013) *The R book - 2e*. John Wiley & Sons, Ltd.
- Curtis, V. A. (2014) ‘Infection-avoidance behaviour in humans and other animals’, *Trends in Immunology*, 35(10), pp. 457–464. doi: 10.1016/j.it.2014.08.006.
- Davidson, E. W. *et al.* (1996) ‘Activity of natural toxins against the silverleaf whitefly , *Bemisia argentifolii*, using a novel feeding bioassay system’, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 79, pp. 25–32. doi: 10.1111/j.1570-7458.1996.tb00805.x.
- Davidson, E. W. *et al.* (2000) ‘Improved artificial feeding system for rearing the whitefly *Bemisia argentifolii* (Homoptera : Aleyrodidae)’, *Florida Entomologist*, 83(4), pp. 459–468. doi: 10.2307/3496721.
- Dinsdale, A. B. *et al.* (2010) ‘Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to

- identify species level genetic boundaries’, *Annals of the Entomological Society of America*, 103(2), pp. 196–208. doi: 10.1603/AN09061.
- Dion, E. *et al.* (2011) ‘Symbiont infection affects aphid defensive behaviours’, *Biology Letters*, 7, pp. 743–746.
- Dobson, S. L. *et al.* (1999) ‘*Wolbachia* infections are distributed throughout insect somatic and germ line tissues’, *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 29, pp. 153–160. doi: 10.1016/S0965-1748(98)00119-2.
- Douglas, A. E. (1993) ‘The nutritional quality of phloem sap utilized by natural aphid populations’, *Ecological Entomology*, 18(1), pp. 31–38. doi: 10.1111/j.1365-2311.1993.tb01076.x.
- Douglas, A. E. (2009) ‘The microbial dimension in insect nutritional ecology’, *Functional Ecology*, 23(1), pp. 38–47. doi: 10.1111/j.1365-2435.2008.01442.x.
- Douglas, A. E. (2014) ‘Molecular dissection of nutrient exchange at the insect- microbial interface’, *Current Opinion in Insect Science*, 4(October), pp. 23–28. doi: 10.1016/j.cois.2014.08.007.
- Douglas, A. E. (2017) ‘The B vitamin nutrition of insects: the contributions of diet, microbiome and horizontally acquired genes’, *Current Opinion in Insect Science*. Elsevier Inc., 23, pp. 1–5. doi: 10.1016/j.cois.2017.07.012.
- Duron, O. *et al.* (2008) ‘The diversity of reproductive parasites among arthropods: *Wolbachia* do not walk alone’, *BMC Biology*, 6(27), pp. 1–12. doi: 10.1186/1741-7007-6-27.
- van Emden, H. F. and Wild, E. A. (2020) ‘A fully artificial diet for *Myzus persicae*-the detailed technical manual’, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 168, pp. 582–586. doi: 10.1111/eea.12917.
- Engl, T. and Kaltenpoth, M. (2018) ‘Influence of microbial symbionts on insect pheromones’, *Natural Product Reports*, 35(5), pp. 386–397. doi: 10.1039/c7np00068e.
- English, S. *et al.* (2015) ‘The information value of non-genetic inheritance in plants and animals’, *PLoS ONE*, 10(1), pp. 1–17. doi: 10.1371/journal.pone.0116996.
- Everett, K. D. E. *et al.* (2005) ‘Novel chlamydiae in whiteflies and scale insects : endosymbionts “*Candidatus Fritschea bemisiae*” strain Falk and “*Candidatus Fritschea eriococci*” strain Elm’, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, pp. 1581–1587. doi: 10.1099/ijs.0.63454-0.
- Febvay, G. *et al.* (1999) ‘Fate of dietary sucrose and neosynthesis of amino acids in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, reared on different diets’, *The journal of Experimental Biology*, 202(19), pp. 2639–2652. doi: 10.1242/jeb.202.19.2639.
- Febvay, G., Delobel, B. and Rahbe, Y. (1987) ‘Influence of the amino acid balance on the improvement of an artificial diet for a biotype of *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera: Aphididae)’, *Canadian Journal of Zoology*, 66(11), pp. 2449–2453. doi: 10.1139/z88-362.
- Feldhaar, H. *et al.* (2007) ‘Nutritional upgrading for omnivorous carpenter ants by the endosymbiont *Blochmannia*’, *BMC Biology*, 5(48), pp. 1–11. doi: 10.1186/1741-7007-5-48.
- Feng, H. *et al.* (2019) ‘Trading amino acids at the aphid – *Buchnera* symbiotic interface’,

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(32), pp. 16003–16011. doi: 10.1073/pnas.1906223116.
- Ferrari, J., Scarborough, C. L. and Godfray, H. C. J. (2007) ‘Genetic variation in the effect of a facultative symbiont on host-plant use by pea aphids’, *Oecologia*, 153(2), pp. 323–329. doi: 10.1007/s00442-007-0730-2.
- Ferrari, J. and Vavre, F. (2011) ‘Bacterial symbionts in insects or the story of communities affecting communities’, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 366, pp. 1389–1400. doi: 10.1098/rstb.2010.0226.
- Firdaus, S. *et al.* (2013) ‘The *Bemisia tabaci* species complex: additions from different parts of the world’, *Insect science*, 20(0), pp. 723–733. doi: 10.1111/1744-7917.12001.
- Florez, L. V. *et al.* (2015) ‘Defensive symbioses of animals with prokaryotic and eukaryotic microorganisms’, *Natural Product Reports*, 32(7), pp. 879–1156. doi: 10.1039/c5np00010f.
- Frago, E. *et al.* (2017) ‘Symbionts protect aphids from parasitic wasps by attenuating herbivore-induced plant volatiles’, *Nature Communications*. Springer US, 8(1860), pp. 1–9. doi: 10.1038/s41467-017-01935-0.
- Frago, E., Dicke, M. and Godfray, H. C. J. (2012) ‘Insect symbionts as hidden players in insect-plant interactions’, *Trends in Ecology and Evolution*, 27(12), pp. 705–711. doi: 10.1016/j.tree.2012.08.013.
- Fukatsu, T. *et al.* (2000) ‘The secondary endosymbiotic bacterium of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Insecta : Homoptera)’, *Applied and Environmental Microbiology*, 66(7), pp. 2748–2758. doi: 10.1128/aem.66.7.2748-2758.2000.
- Gauthier, N. *et al.* (2014) ‘Genetic structure of *Bemisia tabaci* Med populations from home-range countries, inferred by nuclear and cytoplasmic markers : impact on the distribution of the insecticide resistance genes’, *Pest Management Science*, 70, pp. 1477–1491. doi: 10.1002/ps.3733.
- Gehrer, L. and Vorburger, C. (2012) ‘Parasitoids as vectors of facultative bacterial endosymbionts in aphids’, *Biology Letters*, 8(4), pp. 613–615. doi: 10.1098/rsbl.2012.0144.
- Ghosh, S., Bouvaine, S. and Maruthi, M. N. (2015) ‘Prevalence and genetic diversity of endosymbiotic bacteria infecting cassava whiteflies in Africa’, *BMC Microbiology*, 15(83), pp. 1–17. doi: 10.1186/s12866-015-0425-5.
- Gil, R. and Latorre, A. (2019) ‘Unity Makes Strength : A Review on Mutualistic Symbiosis in Representative Insect Clades’, *Life*, 9(21), pp. 1–24. doi: 10.3390/life9010021.
- Gilbert, J. A. *et al.* (2018) ‘Current understanding of the human microbiome’, *Nature Medicine*, 24(4), pp. 392–400. doi: 10.1038/nm.4517.
- Gilbert, S. F., Sapp, J. and Tauber, A. I. (2012) ‘A symbiotic view of life : we have never been individuals’, *The quarterly review of biology*, 87(4), pp. 325–341. doi: 10.1086/668166.
- Giron, D. *et al.* (2017) ‘Influence of microbial symbionts on plant-insect interactions’, in Sauvion, N., Denis, T., and Calatayud, P. A. (eds) *Insect-plant interactions in a crop protection perspective*. Academic Press, pp. 225–257. doi: 10.1016/bs.abr.2016.09.007.
- Gnankiné, O. *et al.* (2013) ‘Distribution of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) biotypes

- and their associated symbiotic bacteria on host plants in West Africa', *Insect Conservation and Diversity*, 6(3), pp. 411–421. doi: 10.1111/j.1752-4598.2012.00206.x.
- Gomez-Valero, L. *et al.* (2004) 'Coexistence of *Wolbachia* with *Buchnera aphidicola* and a secondary symbiont in the aphid *Cinara cedri*', *Journal of Bacteriology*, 186(19), pp. 6626–6633. doi: 10.1128/JB.186.19.6626.
- Gonella, E. *et al.* (2015) 'Plant-mediated interspecific horizontal transmission of an intracellular symbiont in insects', *Scientific Reports*. Nature Publishing Group, 5(15811), pp. 1–10. doi: 10.1038/srep15811.
- Goodacre, S. L. and Martin, O. Y. (2012) 'Modification of insect and arachnid behaviours by vertically transmitted endosymbionts: infections as drivers of behavioural change and evolutionary novelty', *Insects*, 3(1), pp. 246–261. doi: 10.3390/insects3010246.
- Gosalbes, M. J. *et al.* (2008) 'The striking case of tryptophan provision in the *Cedar Aphid*', *Journal of Bacteriology*, 190(17), pp. 6026–6029. doi: 10.1128/JB.00525-08.
- Gottlieb, Y. *et al.* (2006) 'Identification and localization of a *Rickettsia* sp. in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae)', *Haematologica*, 72(5), pp. 3646–3652. doi: 10.1128/AEM.72.5.3646.
- Gottlieb, Y. *et al.* (2008) 'Inherited intracellular ecosystem: symbiotic bacteria share bacteriocytes in whiteflies', *The FASEB Journal*, 22(7), pp. 2591–2599. doi: 10.1096/fj.07-101162.
- Gottlieb, Y. *et al.* (2010) 'The transmission efficiency of Tomato Yellow Leaf Curl Virus by the whitefly *Bemisia tabaci* is correlated with the presence of a specific symbiotic bacterium species', *Journal of Virology*, 84(18), pp. 9310–9317. doi: 10.1128/JVI.00423-10.
- Grover, S. *et al.* (2018) 'Potential of RNA interference in the study and management of the whitefly, *Bemisia tabaci*', *Insect biochemistry and physiology*, 100(2), pp. 1–17. doi: 10.1002/arch.21522.
- Gueguen, G. *et al.* (2010) 'Endosymbiont metacommunities, mtDNA diversity and the evolution of the *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) species complex', *Molecular Ecology*, 19, pp. 4365–4378. doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04775.x.
- Guo, C. *et al.* (2021) 'First report of the invasion of Q2 subclade of *Bemisia tabaci* MED in South Korea as revealed by extensive field investigation', *Phytoparasitica*. *Phytoparasitica*, 50, pp. 90–100. doi: 10.1007/s12600-021-00946-4.
- Guo, L. *et al.* (2019) 'Amino acid utilization may explain why *Bemisia tabaci* Q and B differ in their performance on plants infected by the tomato yellow leaf curl virus', *Frontiers in Physiology*, 10(489), pp. 1–8. doi: 10.3389/fphys.2019.00489.
- Hall, D. G. *et al.* (2010) 'Research toward an artificial diet for adult asian citrus psyllid', *Annals of the Entomological Society of America*, 103(4), pp. 611–617. doi: 10.1603/AN10004.
- Hansen, A. K. and Moran, N. A. (2011) 'Aphid genome expression reveals host – symbiont cooperation in the production of amino acids', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(7), pp. 2849–2854. doi: 10.1073/pnas.1013465108.
- Hansen, A. K. and Moran, N. A. (2014) 'The impact of microbial symbionts on host plant utilization by herbivorous insects', *Molecular Ecology*, 23(6), pp. 1473–1496. doi: 10.1111/mec.12421.

- Hart, B. L. (2011) 'Behavioural defences in animals against pathogens and parasites : parallels with the pillars of medicine in humans', *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 366, pp. 3406–3417. doi: 10.1098/rstb.2011.0092.
- Heil, M. (2016) 'Host manipulation by parasites : cases ,patterns , and remaining doubts', *Frontiers in Ecology and Evolution*, 4(80), pp. 1–15. doi: 10.3389/fevo.2016.00080.
- Henderson, J. W. *et al.* (2000) 'Rapid, accurate, sensitive, and reproducible HPLC analysis of amino acids and the Agilent 1100 HPLC. Amino acid analysis using Zorbax Eclipse-AAA columns and the Agilent 1100 HPLC', *Agilent Technologies Inc, Publication Number 59800-1193E*, pp. 1–10.
- Hendry, T. A., Hunter, M. S. and Baltrus, D. A. (2014) 'The facultative symbiont *Rickettsia* protects an invasive whitefly against entomopathogenic *Pseudomonas syringae* Strains', *Applied and Environmental Microbiology*, 80(23), pp. 7161–7168. doi: 10.1128/AEM.02447-14.
- Henri, H. *et al.* (2013) 'Molecular characterization of genetic diversity within the Africa/Middle East/Asia Minor and Sub-Saharan African groups of the *Bemisia tabaci* species complex', *International Journal of Pest Management*, 59(4), pp. 329–338. doi: 10.1080/09670874.2013.869374.
- Henry, L. M. *et al.* (2013) 'Horizontally transmitted symbionts and host colonization of ecological niches', *Current Biology*, 23(17), pp. 1713–1717. doi: 10.1016/j.cub.2013.07.029.
- Henry, L. M. *et al.* (2015) 'Insect life history and the evolution of bacterial mutualism', *Ecology Letters*, 18(6), pp. 516–525. doi: 10.1111/ele.12425.
- Heyworth, E. R., Smee, M. R. and Ferrari, J. (2020) 'Aphid Facultative Symbionts Aid Recovery of Their Obligate Symbiont and Their Host After Heat Stress', *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8. doi: 10.3389/fevo.2020.00056.
- Himler, A. G. *et al.* (2011) 'Rapid spread of a bacterial symbiont in an invasive whitefly is driven by fitness benefits and female bias', *Science*, 332, pp. 254–256. doi: 10.1126/science.1199410.
- Horowitz, R., Denholm, I. A. N. and Morin, S. (2007) 'Resistance to insecticides in the TYLCV vector, *Bemisia tabaci*', in Czosnek, H. (ed.) *Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease: Management, Molecular Biology, Breeding for Resistance*. Dordrecht, The Netherlands: Springer, pp. 305–325.
- Hosokawa, T. *et al.* (2010) '*Wolbachia* as a bacteriocyte-associated nutritional mutualist', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(2), pp. 769–774. doi: 10.1073/pnas.0911476107.
- Hosokawa, T. and Fukatsu, T. (2020) 'Relevance of microbial symbiosis to insect behavior', *Current Opinion in Insect Science*. Elsevier Inc, 39(March), pp. 91–100. doi: 10.1016/j.cois.2020.03.004.
- Hu, J. *et al.* (2018) 'New putative cryptic species detection and genetic network analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in China based on mitochondrial COI sequences', *Mitochondrial DNA Part A*. Informa UK Ltd., 29(3), pp. 474–484. doi: 10.1080/24701394.2017.1307974.
- Hunter, M. S. *et al.* (2017) 'Host nuclear genotype influences phenotype of a conditional

- mutualist symbiont', *Journal of Evolutionary Biology*, 30(1), pp. 141–149. doi: 10.1111/jeb.12993.
- Hurst, G. D. D. and Frost, C. L. (2015) 'Reproductive parasitism: maternally inherited symbionts in a biparental world', *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(5), pp. 1–21. doi: 10.1101/cshperspect.a017699.
- Iida, H., Kitamura, T. and Honda, K. (2009) 'Comparison of egg-hatching rate, survival rate and development time of the immature stage between B- and Q-biotypes of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) on various agricultural crop', *Applied Entomology and Zoology*, 44(2), pp. 267–273. doi: 10.1303/aez.2009.267.
- Islam, N. *et al.* (2017) 'High Level of Nitrogen Makes Tomato Plants Releasing Less Volatiles and Attracting More *Bemisia tabaci* (Hemiptera : Aleyrodidae)', *Frontiers in plant Science*, 8(March), pp. 1–14. doi: 10.3389/fpls.2017.00466.
- Jaenike, J. *et al.* (2006) 'Asymmetrical reinforcement and *Wolbachia* infection in *Drosophila*', *PLoS Biology*, 4(10), pp. 1852–1862. doi: 10.1371/journal.pbio.0040325.
- Jancovich, J. K. *et al.* (1997) 'Feeding chamber and diet for culture of nymphal *Bemisia argentifolii* (Homoptera : Aleyrodidae)', *Journal of Economic Entomology*, 90(2), pp. 628–633. doi: 10.1093/jee/90.2.628.
- Jiao, X. *et al.* (2013) 'Differences in host selection and performance between B and Q putative species of *Bemisia tabaci* on three host plants', *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 147(1), pp. 1–8. doi: 10.1111/eea.12040.
- Jones, D. R. (2003) 'Plant viruses transmitted by whiteflies', *European Journal of Plant Pathology*, 109(3), pp. 195–219. doi: 0.1023/A:1022846630513.
- Jose, A. P. *et al.* (2019) 'Symbiotic bacteria affect oviposition behavior in the olive fruit fly *Bactrocera oleae*', *Journal of Insect Physiology*. Elsevier, 117, pp. 1–6. doi: 10.1016/j.jinsphys.2019.103917.
- Kanakala, S. and Gahnim, M. (2019) 'Global genetic diversity and geographical distribution of *Bemisia tabaci* and its bacterial endosymbionts', *PLoS ONE*, 14(3), pp. 1–21. doi: 10.1371/journal.pone.0213946 March.
- Karley, A. J., Douglas, A. E. and Parker, W. E. (2002) 'Amino acid composition and nutritional quality of potato leaf phloem sap for aphids', *The journal of Experimental Biology*, 205(19), pp. 3009–3018. doi: 10.1242/jeb.205.19.3009.
- Kliot, A. *et al.* (2014) 'Implication of the bacterial endosymbiont *Rickettsia* spp. in interactions of the whitefly *Bemisia tabaci* with Tomato Yellow Leaf Curl Virus', *Journal of Virology*, 88(10), pp. 5652–5660. doi: 10.1128/JVI.00071-14.
- Kliot, A. *et al.* (2019) 'Combined infection with *Tomate yellow leaf curl virus* and *Rickettsia* influences fecundity, attraction to infected plants and expression of immunity-related genes in the whitefly *Bemisia tabaci*', *Journal of General Virology*, 100(4), pp. 721–731. doi: 10.1099/jgv.0.001233.
- Koga, R., Tsuchida, T. and Fukatsu, T. (2003) 'Changing partners in an obligate symbiosis : a facultative endosymbiont can compensate for loss of the essential endosymbiont *Buchnera* in an aphid', *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270, pp. 2543–2550. doi: 10.1098/rspb.2003.2537.

- Kontsedalov, S. *et al.* (2008) 'The presence of *Rickettsia* is associated with increased susceptibility of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides', *Pest management science*, 64, pp. 789–792. doi: 10.1002/ps.1595.
- Koyama, K. (1988) 'Artificial rearing and nutritional physiology of the planthoppers and leafhoppers (Hemiptera: Delphacidae and Deltocephalidae) on a holidic diet', *JARQ*, 22(1), pp. 20–27.
- Lamelas, A. *et al.* (2011) '*Serratia symbiotica* from the aphid *Cinara cedri*: a missing link from facultative to obligate insect endosymbiont', *PLoS Genetics*, 7(11), pp. 1–11. doi: 10.1371/journal.pgen.1002357.
- Lee, W. *et al.* (2013) 'Taxonomic Status of the *Bemisia tabaci* Complex (Hemiptera : Aleyrodidae) and Reassessment of the Number of Its Constituent Species', *PLoS ONE*, 8(5), pp. 1–10. doi: 10.1371/journal.pone.0063817.
- Leitão-Gonçalves, R. *et al.* (2017) 'Commensal bacteria and essential amino acids control food choice behavior and reproduction', *PLoS Biology*, 15(4), pp. 1–29. doi: doi.org/10.1371/journal.pbio.2000862 Academic.
- Lemoine, M., Engl, T. and Kaltenpoth, M. (2020) 'Microbial symbionts expanding or constraining abiotic niche space in insects', *Current Opinion in Insect Science*. Elsevier Inc, 39(June), pp. 14–20. doi: 10.1016/j.cois.2020.01.003.
- Lenhart, P. A. and White, J. A. (2020) 'Endosymbionts facilitate rapid evolution in a polyphagous herbivore', *Journal of Evolutionary Biology*, 33, pp. 1507–1511. doi: 10.1111/jeb.13697.
- Leonardo, T. E. (2004) 'Removal of a specialization-associated symbiont does not affect aphid fitness', *Ecology Letters*, 7(6), pp. 461–468. doi: 10.1111/j.1461-0248.2004.00602.x.
- Leonardo, T. E. and Muiru, G. T. (2003) 'Facultative symbionts are associated with host plant specialization in pea aphid populations', *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(suppl_2), pp. S209–S212. doi: 10.1098/rsbl.2003.0064.
- Lewis, Z. and Lize, A. (2015) 'Insect behaviour and the microbiome', *Current Opinion in Insect Science*, 9(3), pp. 86–90. doi: 10.1016/j.cois.2015.03.003.
- Leybourne, D. J. *et al.* (2020) 'A fitness cost resulting from *Hamiltonella defensa* infection is associated with altered probing and feeding behaviour in *Rhopalosiphum padi*', *Journal of Experimental Biology*, 223(1), pp. 1–15. doi: 10.1242/jeb.207936.
- Li, S. *et al.* (2016) 'Plant – mediated horizontal transmission of *Wolbachia* between whiteflies', *The ISME Journal*. Nature Publishing Group, 11(4), pp. 1–10. doi: 10.1038/ismej.2016.164.
- Li, T., Vinson, S. B. and Gerling, A. (1989) 'Courtship and mating behavior of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae)', *Entomological Society of America*, 18(5), pp. 800–806. doi: 10.1093/ee/18.5.800.
- Li, Y. *et al.* (2017) 'Plant-mediated horizontal transmission of *Rickettsia* endosymbiont between different whitefly species', *FEMS Microbiology Ecology*, 93(6), pp. 1–9. doi: 10.1093/femsec/fix138.
- Liadouze, I. *et al.* (1995) 'Effect of diet on the free amino acid pools of symbiotic and

- aprosymbiotic pea aphids, *Acyrtosiphon pisum*', *Journal of Insect Physiology*, 41(1), pp. 33–40. doi: 10.1016/0022-1910(94)00085-U.
- Liu, S. sheng, Colvin, J. and De Barro, P. J. (2012) 'Species concepts as applied to the whitefly *Bemisia tabaci*: how many species are there?', *Journal of Integrative Agriculture*. Chinese Academy of Agricultural Sciences, 11(2), pp. 176–186. doi: 10.1016/S2095-3119(12)60002-1.
- Liu, Y.-H. *et al.* (2020) 'Host plant affects symbiont abundance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae)', *Insects*, 11(8), pp. 1–17. doi: 10.3390/insects11080501.
- Luan, J.-B. *et al.* (2015) 'Metabolic coevolution in the bacterial symbiosis of whiteflies and related plant sap-feeding insects', *Genome Biology and Evolution*, 7(9), pp. 2635–2647. doi: 10.1093/gbe/evv170.
- Luan, J. *et al.* (2018) 'Maternal inheritance of a single somatic animal cell displayed by the bacteriocyte in the whitefly *Bemisia tabaci*', *Current Biology*. Elsevier Ltd., 28(3), pp. 459–465. doi: 10.1016/j.cub.2017.12.041.
- Luan, J. B. *et al.* (2013) 'Suppression of terpenoid synthesis in plants by a virus promotes its mutualism with vectors', *Ecology Letters*, 16(3), pp. 390–398. doi: 10.1111/ele.12055.
- Luan, J. B. *et al.* (2016) 'Cellular and molecular remodelling of a host cell for vertical transmission of bacterial symbionts', *Proceedings. Biological sciences*, 283(1833). doi: 10.1098/rspb.2016.0580.
- Lukasik, P. *et al.* (2015) 'Horizontal transfer of facultative endosymbionts is limited by host relatedness', *Evolution*, 69(10), pp. 2757–2766. doi: 10.1111/evo.12767.
- Lv, Z. *et al.* (2018) 'Differential susceptibility of whitefly-associated bacteria to antibiotic as revealed by metagenomics analysis', *Infection, Genetics and Evolution*. Elsevier B.V, 63(9), pp. 24–29. doi: 10.1016/j.meegid.2018.04.024.
- Lynch, J. B. and Hsiao, E. Y. (2019) 'Microbiomes as sources of emergent host phenotypes', *Science*, 365(6460), pp. 1405–1409. doi: 10.1126/science.aay0240.
- Malka, O. *et al.* (2018) 'Species-complex diversification and host-plant associations in *Bemisia tabaci*: A plant-defence, detoxification perspective revealed by RNA-Seq analyses', *Molecular Ecology*, 27(21), pp. 4241–4256. doi: 10.1111/mec.14865.
- Manzano-Marín, A. *et al.* (2017) 'Happens in the best of subfamilies : establishment and repeated replacements of co-obligate secondary endosymbionts within Lachninae aphids', *Environmental microbiology*, 19(1), pp. 393–408. doi: 10.1111/1462-2920.13633.
- Manzano-Marín, A., Simon, J. and Latorre, A. (2016) 'Reinventing the wheel and making it round again: evolutionary convergence in *Buchnera* – *Serratia* Symbiotic consortia between the distantly related Lachninae aphids *Tubercolachnus salignus* and *Cinara cedri*', *Genome Biology*, 8(5), pp. 1440–1458. doi: 10.1093/gbe/evw085.
- Margulis, L. and Fester, R. (1991) *Symbiosis as a Source of Evolutionary Innovation : speciation and morphogenesis*. MIT Press. doi: [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(92\)90028-A](https://doi.org/10.1016/0169-5347(92)90028-A).
- Martin, J. H. and Mound, L. A. (2007) *An annotated check list of the world's whiteflies (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae)*. Auckland, New Zealand: Magnolia Press.
- Marubayashi, J. M. *et al.* (2014) 'Diversity and localization of bacterial endosymbionts from whitefly species collected in Brazil', *PLoS ONE*, 9(9), pp. 1–10. doi:

- 10.1371/journal.pone.0108363.
- McCutcheon, J. P. and von Dohlen, C. D. (2011) ‘An interdependent metabolic patchwork in the nested symbiosis of mealybugs’, *Current Biology*, 21(16), pp. 1366–1372. doi: 10.1016/j.cub.2011.06.051.An.
- Mccutcheon, J. P. and Moran, N. A. (2012) ‘Extreme genome reduction in symbiotic bacteria’, *Nature Reviews Microbiology*, 10(1), pp. 13–26. doi: 10.1038/nrmicro2670.
- Meseguer, A. S. *et al.* (2017) ‘*Buchnera* has changed flatmate but the repeated replacement of co-obligate symbionts is not associated with the ecological expansions of their aphid hosts’, *Molecular Ecology*, 26(8), pp. 2363–2378. doi: 10.1111/mec.13910.
- Miller, W. J., Ehrman, L. and Schneider, D. (2010) ‘Infectious speciation revisited: Impact of symbiont-depletion on female fitness and mating behavior of *Drosophila paulistorum*’, *PLoS Pathogens*, 6(12). doi: 10.1371/journal.ppat.1001214.
- Mindell, D. P. (1992) ‘Phylogenetic consequences of symbioses: Eukarya and Eubacteria are not monophyletic taxa’, *BioSystems*, 27(1), pp. 53–62. doi: 10.1016/0303-2647(92)90046-2.
- Montllor, C. B., Maxmen, A. and Purcell, A. H. (2002) ‘Facultative bacterial endosymbionts benefit pea aphids *Acyrtosiphon pisum* under heat stress’, *Ecological Entomology*, 27(11), pp. 189–195. doi: 10.1046/j.1365-2311.2002.00393.x.
- Moran, N. A. (1996) ‘Accelerated evolution and Muller’s ratchet in endosymbiotic bacteria’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(7), pp. 2873–2878. doi: 10.1073/pnas.93.7.2873.
- Moran, N. A. *et al.* (2005) ‘The players in a mutualistic symbiosis: Insects, bacteria, viruses, and virulence genes’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(47), pp. 16919–16926. doi: 10.1073/pnas.0507029102.
- Moran, N. A. and Bennett, G. M. (2014) ‘The Tiniest Tiny Genomes’, *Annual Review of microbiology*, 68, pp. 195–215. doi: 10.1146/annurev-micro-091213-112901.
- Moran, N. A., McCutcheon, J. P. and Nakabachi, A. (2008) ‘Genomics and evolution of heritable bacterial symbionts’, *Annual Review of Genetics*, 42(1), pp. 165–190. doi: 10.1146/annurev.genet.41.110306.130119.
- Moran, N. A. and Telang, A. (1998) ‘Symbionts of insects a variety of insect groups harbor ancient prokaryotic endosymbionts’, *BioScience*, 48(4), pp. 295–304.
- Mousseau and Fox (1998a) *Maternal effects as adaptations*. Edited by Oxford University Press USA.
- Mousseau and Fox (1998b) ‘The adaptive significance of maternal effects’, *TREE*, 13(10), pp. 403–407. doi: 10.1016/s0169-5347(98)01472-4.
- Mouton, L. *et al.* (2005) ‘Multiple infections and diversity of cytoplasmic incompatibility in a haplodiploid species’, *Heredity*, 94(2), pp. 187–192. doi: 10.1038/sj.hdy.6800596.
- Mouton, L. *et al.* (2012) ‘Evidence of diversity and recombination in *Arsenophonus* symbionts of the *Bemisia tabaci* species complex’, *BMC Microbiology*, 12(Suppl 1), pp. 1–15. doi: 10.1186/1471-2180-12-S1-S10.
- Mouton, L. *et al.* (2015) ‘Detection of genetically isolated entities within the Mediterranean species of *Bemisia tabaci*: New insights into the systematics of this worldwide pest’, *Pest*

- Management Science*, 71(3), pp. 452–458. doi: 10.1002/ps.3834.
- Mouton, L. *et al.* (2021) ‘Analyses of symbiotic bacterial communities in the plant pest *Bemisia tabaci* reveal high prevalence of *Hemipteriphilus asiaticus* on the African continent’, *bioRxiv*, pp. 1–33. doi: : <https://doi.org/10.1101/2021.10.06.463217>.
- Mrisho, L. M. *et al.* (2021) ‘Influence of Olfaction in Host-Selection Behavior of the Cassava Whitefly *Bemisia tabaci*’, *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9(November), pp. 1–13. doi: 10.3389/fevo.2021.775778.
- Najarro, M. A. *et al.* (2015) ‘Choosing mates based on the diet of your ancestors: Replication of non-genetic assortative mating in *Drosophila melanogaster*’, *PeerJ*, 6(3), pp. 1–11. doi: 10.7717/peerj.1173.
- Oakeson, K. F. *et al.* (2014) ‘Genome Degeneration and Adaptation in a Nascent Stage of Symbiosis’, *Genome Biology and Evolution*, 6(1), pp. 76–93. doi: 10.1093/gbe/evt210.
- Oliveira, M. R. V, Henneberry, T. J. and Anderson, P. (2001) ‘History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*’, *Crop Protection*, 20(9), pp. 709–723. doi: 10.1016/S0261-2194(01)00108-9.
- Oliver, K. M. *et al.* (2003) ‘Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(4), pp. 1803–1807. doi: 10.1073/pnas.0335320100.
- Oliver, K. M., Moran, N. A. and Hunter, M. S. (2006) ‘Costs and benefits of a superinfection of facultative symbionts in aphids’, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(2), pp. 1273–1280. doi: 10.1098/rspb.2005.3436.
- Opatovsky, I. *et al.* (2018) ‘Modeling trophic dependencies and exchanges among insects’ bacterial symbionts in a host-simulated environment’, *BMC Genomics*. BMC Genomics, 19(402), pp. 1–14. doi: 10.1186/s12864-018-4786-7.
- Panhuis, T. M. *et al.* (2001) ‘Sexual selection and speciation’, *Trends in Ecology & Evolution*, 16(7), pp. 79–102. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095733.
- Parrella, G. *et al.* (2014) ‘Invasion of the Q2 mitochondrial variant of Mediterranean *Bemisia tabaci* in southern Italy: Possible role of bacterial endosymbionts’, *Pest Management Science*, 70(10), pp. 1514–1523. doi: 10.1002/ps.3686.
- Patino-Navarete, R. *et al.* (2014) ‘The cockroach *Blattella germanica* obtains nitrogen from uric acid through a metabolic pathway shared with its bacterial endosymbiont’, *Biology Letters*, 10(7), pp. 1–4. doi: 10.1098/rsbl.2014.0407.
- Peccoud, J. *et al.* (2009) ‘A continuum of genetic divergence from sympatric host races to species in the pea aphid complex’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(18), pp. 7495–7500. doi: 10.1073/pnas.0811117106.
- Peccoud, J. *et al.* (2015) ‘Genetic characterisation of new host-specialised biotypes and novel associations with bacterial symbionts in the pea aphid complex’, *Insect Conservation and Diversity*, 8(5), pp. 484–492. doi: 10.1111/icad.12131.
- Perring, T. M. *et al.* (2018) ‘Whiteflies: biology, ecology, and management’, in Wakil, W., Brust, G. E., and Perring, T. M. (eds) *Sustainable Management of Arthropod Pests of Tomato*. Academix P. Elsevier Inc., pp. 73–110. doi: 10.1016/B978-0-12-802441-6.00004-8.

- Perring, T. M. and Symmes, E. J. (2006) 'Courtship behavior of *Bemisia argentifolii* (Hemiptera: Aleyrodidae) and whitefly mate recognition.', *Annals of the Entomological Society of America*, 99(3), pp. 598–606. doi: 10.1603/0013-8746(2006)99[598:CBOBAH]2.0.CO;2.
- Pimentel, C. *et al.* (2021) 'The antiviral effects of the symbiont bacteria *Wolbachia* in insects', *frontiers in immunology*, 11(January), pp. 1–10. doi: 10.3389/fimmu.2020.626329.
- Polin, S., Simon, J. and Outreman, Y. (2014) 'An ecological cost associated with protective symbionts of aphids', *Ecology and Evolution*, 4(6), pp. 836–840. doi: 10.1002/ece3.991.
- Polston, J. E., Barro, D. and Boykin, L. M. (2014) 'Transmission specificities of plant viruses with the newly identified species of the *Bemisia tabaci* species complex', *Pest Management Science*, 70(10), pp. 1547–1552. doi: 10.1002/ps.3738.
- Pons, I. *et al.* (2019) 'Circulation of the cultivable symbiont *Serratia symbiotica* in aphids is mediated by plants', *Frontiers in Microbiology*, 10(764), pp. 1–13. doi: 10.3389/fmicb.2019.00764.
- Poulin, R. (2010) 'Parasite manipulation of host behavior: an update and frequently asked questions', *Advances in the Study of Behavior*. Elsevier Inc., 41(10), pp. 151–186. doi: 10.1016/S0065-3454(10)41005-0.
- Powell, G., Tosh, C. R. and Hardie, J. (2006) 'HOST PLANT SELECTION BY APHIDS : Behavioral , Evolutionary , and Applied Perspectives', *Annual Review of Entomology*, 51(22), pp. 309–30. doi: 10.1146/annurev.ento.51.110104.151107.
- Price, D. R. G. *et al.* (2014) 'Aphid amino acid transporter regulates glutamine supply to intracellular bacterial symbionts', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(1), pp. 320–325. doi: 10.1073/pnas.1306068111.
- Qi, L. *et al.* (2019) 'Diversity and phylogenetic analyses reveal horizontal transmission of endosymbionts between whiteflies and their parasitoids', *Journal of Economic Entomology*, 112(2), pp. 894–905. doi: 10.1093/jee/toy367.
- Qiao, H. *et al.* (2019) 'Gut microbiota affects development and olfactory behavior in *Drosophila melanogaster*', *Journal of experimental biology*, 222(5), pp. 1–10. doi: 10.1242/jeb.192500.
- Rabatel, A. *et al.* (2013) 'Tyrosine pathway regulation is host-mediated in the pea aphid symbiosis during late embryonic and early larval development', *BMC Genomics*, 14(1), pp. 1–17. doi: 10.1186/1471-2164-14-235.
- Rana, V. S. *et al.* (2012) '*Arsenophonus* GroEL interacts with CLCuV and is localized in midgut and salivary gland of whitefly *B. tabaci*', *PLoS ONE*, 7(8), pp. 1–13. doi: 10.1371/journal.pone.0042168.
- Rao, Q. *et al.* (2015) 'Genome reduction and potential metabolic complementation of the dual endosymbionts in the whitefly *Bemisia tabaci*', *BMC Genomics*, 16(1), pp. 226–238. doi: 10.1186/s12864-015-1379-6.
- Ren, F. R. *et al.* (2020) 'Biotin provisioning by horizontally transferred genes from bacteria confers animal fitness benefits', *ISME Journal*. Springer US, 14(10), pp. 2542–2553. doi: 10.1038/s41396-020-0704-5.
- Ren, F. R. *et al.* (2021) 'Pantothenate mediates the coordination of whitefly and symbiont

- fitness', *The ISME Journal*. Springer US, 15(6), pp. 1655–1667. doi: 10.1038/s41396-020-00877-8.
- Reno, F., Pons, I. and Hance, T. (2019) 'Evolutionary responses of mutualistic insect–bacterial symbioses in a world of fluctuating temperatures', *Current Opinion in Insect Science*, 35, pp. 20–26. doi: 10.1016/j.cois.2019.06.006.
- Reymond, N. *et al.* (2006) 'Different levels of transcriptional regulation due to trophic constraints in the reduced genome of *Buchnera aphidicola*', *Applied and Environmental Microbiology*, 72(12), pp. 7760–7766. doi: 10.1128/AEM.01118-06.
- Riley, D. G. and Palumbo, J. C. (1995) 'Interaction of Silverleaf Whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) with Cantaloupe Yield', *Journal of Economic Entomology*, 88(6), pp. 1726–1732.
- Romba, R. *et al.* (2018) 'Abundance of *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) and its parasitoids on vegetables and cassava plants in Burkina Faso (West Africa)', *Ecology and Evolution*, 8(12), pp. 6091–6103. doi: 10.1002/ece3.4078.
- Romba, R. and Gnankiné, O. (2018) 'Comparative biology parameters of Q1 and Q3 genotypes of *Bemisia tabaci* MED (Hemiptera: Aleyrodidae) on two host plants in Burkina Faso, West Africa', *African Entomology*, 26(1), pp. 116–123.
- Roode, J. C. De and Lefèvre, T. (2012) 'Behavioral immunity in insects', *Insects*, 3(3), pp. 789–820. doi: 10.3390/insects3030789.
- Roopa, H. K. *et al.* (2015) 'Prevalence of a new genetic group, MEAM-K, of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Karnataka, India, as evident from mtCOI sequences', *Florida Entomologist*, 98(4), pp. 1062–1071.
- Rosenberg, E. *et al.* (2007) 'The role of microorganisms in coral health, disease and evolution', *Nature Reviews Microbiology*, 5(5), pp. 355–362. doi: 10.1038/nrmicro1635.
- Russell, J. A. and Moran, N. A. (2006) 'Costs and benefits of symbiont infection in aphids: variation among symbionts and across temperatures', *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1586), pp. 603–610. doi: 10.1098/rspb.2005.3348.
- Russell, L. (2020) 'emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.4.8. <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>'.
- Sabree, Z. L., Kambhampati, S. and Moran, N. A. (2009) 'Nitrogen recycling and nutritional provisioning by *Blattabacterium*, the cockroach endosymbiont', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(46), pp. 19521–19526.
- Salvucci, M. E. and Crafts-brandner, S. J. (2000) 'Effects of temperature and dietary sucrose concentration on respiration in the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*', *Journal of Insect Physiology*, 46, pp. 1461–1467.
- Salvucci, M. E., Hendrix, D. L. and Wolfe, G. R. (1998) 'A thermoprotective role for sorbitol in the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*', *Journal of Insect Physiology*, 44, pp. 597–603.
- Salvucci, M. E., Wolfe, G. R. and Hendrix, D. L. (1997) 'Effect of sucrose concentration on carbohydrate metabolism in *Bemisia argentifolii*: biochemical mechanism and physiological role for trehalulose synthesis in the silverleaf whitefly', *Journal of Insect Physiology*, 43(5), pp. 457–464.

- Sandström, J. and Pettersson, J. (1994) 'Amino acid composition of phloem sap and the relation to intraspecific variation in pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) performance', *Journal of Insect Physiology*, 40(11), pp. 947–955. doi: 10.1016/0022-1910(94)90133-3.
- Santos-garcia, D. *et al.* (2020) 'Portiera gets wild: genome instability provides insights into the evolution of both whiteflies and their endosymbionts', *Genome Biology and Evolution*, 12(11), pp. 2107–2124. doi: 10.1093/gbe/evaa216.
- Santos-Garcia, D. *et al.* (2012) 'Complete genome sequence of "Candidatus *Portiera aleyrodidarum*" BT-QVLC, an obligate symbiont that supplies amino acids and carotenoids to *Bemisia tabaci*', *Journal of Bacteriology*, 194(23), pp. 6654–6655. doi: 10.1128/JB.01793-12.
- Santos-Garcia, D. *et al.* (2014) 'The genome of *Cardinium* cBtQ1 provides insights into enome reduction, symbiont motility, and its settlement in *Bemisia tabaci*', *Genome Biology and Evolution*, 6(4), pp. 1013–1030. doi: 10.1093/gbe/evu077.
- Santos-Garcia, D. *et al.* (2018) 'To B or not to B: comparative genomics suggests *Arsenophonus* as a source of B vitamins in whiteflies', *Frontiers in Microbiology*, 9, p. 2254. doi: 10.3389/fmicb.2018.02254.
- Schluter, D. (2001) 'Ecology and the origin of species', *Trends in Ecology & Evolution*, 16(7), pp. 372–380.
- Schneider, D. I. *et al.* (2019) 'Symbiont-driven male mating success in the neotropical *Drosophila paulistorum* superspecies', *Behavior Genetics*. Springer US, 49(1), pp. 83–98. doi: 10.1007/s10519-018-9937-8.
- Schretter, C. E. *et al.* (2018) 'A gut microbial factor modulates locomotor behaviour in *Drosophila*', *Nature*. Springer US, 563(7731), pp. 402–406. doi: 10.1038/s41586-018-0634-9.
- Seehausen, O. *et al.* (2014) 'Genomics and the origin of species', *Nature Reviews Genetics*. Nature Publishing Group, 15(3), pp. 176–192. doi: 10.1038/nrg3644.
- Serganov, A. and Patel, D. J. (2009) 'Amino acid recognition and gene regulation by riboswitches', *Biochim Biophys Acta*, 1789(9–10), pp. 592–611. doi: 10.1016/j.bbagr.2009.07.002.Amino.
- Shah, M. M. R. and Liu, T. X. (2013) 'Feeding experience of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) affects their performance on different host plants', *PLoS ONE*, 8(10), p. e77368. doi: 10.1371/journal.pone.0077368.
- Shan, H. *et al.* (2020) 'New insights into the transovarial transmission of the symbiont Rickettsia in whiteflies', *Science China Life Sciences*, 64(7), pp. 1174–1186.
- Shan, H. W. *et al.* (2016) 'Temporal changes of symbiont density and host fitness after rifampicin treatment in a whitefly of the *Bemisia tabaci* species complex', *Insect Science*, 23(2), pp. 200–214. doi: 10.1111/1744-7917.12276.
- Shan, H. W. *et al.* (2019) 'The inherited bacterial symbiont *Hamiltonella* influences the sex ratio of an insect host', *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286(1915). doi: 10.1098/rspb.2019.1677.
- Sharon, G. *et al.* (2010) 'Commensal bacteria play a role in mating preference of *Drosophila melanogaster*', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of*

- America*, 107(46), pp. 20051–20056. doi: 10.1073/pnas.1009906107.
- Shi, P. *et al.* (2016) ‘*Wolbachia* has two different localization patterns in whitefly *Bemisia tabaci* AsiaII7 species’, *PLoS ONE*, 11(9), pp. 1–12. doi: 10.1371/journal.pone.0162558.
- Shi, P. *et al.* (2021) ‘*Rickettsia* increases its infection and spread in whitefly populations by manipulating the defense patterns of the host plant’, *FEMS Microbiology Ecology*, 97(4). doi: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiab032>.
- Shigenobu, S. *et al.* (2000) ‘Genome sequence of the endocellular bacterial symbiont of aphids *Buchnera* sp. APS’, *Nature*, 407(7), pp. 81–86. doi: 10.1038/35024074.
- Shropshire, J. D. and Bordenstein, S. R. (2016) ‘Speciation by symbiosis: The microbiome and behavior’, *mBio*, 7(2), pp. 1–11. doi: 10.1128/mBio.01785-15.
- Simcox, Eve Michelle and Reeve, Amy Katherine (2016) ‘An introduction to mitochondria , their structure and functions’, in Reeve, Amy K. *et al.* (eds) *Mitochondrial Dysfunction in Neurodegenerative Disorders*. 2nd edn. Springer, Cham, pp. 3–30. doi: 10.1007/978-3-319-28637-2.
- Simon, J. *et al.* (2019) ‘Host-microbiota interactions : from holobiont theory to analysis’, *Microbiome*. *Microbiome*, 7(5), pp. 1–5. doi: 10.1186/s40168-019-0619-4.
- Simonet, P. *et al.* (2016) ‘Disruption of phenylalanine hydroxylase reduces adult lifespan and fecundity , and impairs embryonic development in parthenogenetic pea aphids’, *Scientific Reports*, 6(34321), pp. 1–12. doi: 10.1038/srep34321.
- Sinisterra, X. H. *et al.* (2005) ‘Differential transcriptional activity of plant-pathogenic begomoviruses in their whitefly vector (*Bemisia tabaci*, Gennadius: Hemiptera Aleyrodidae)’, *Journal of General Virology*, 86(5), pp. 1525–1532. doi: 10.1099/vir.0.80665-0.
- Skaljac, M. *et al.* (2010) ‘Co-infection and localization of secondary symbionts in two whitefly species’, *BMC Microbiology*, 10(142), pp. 1–15. doi: 10.1186/1471-2180-10-142.
- Sloan, D. B. and Moran, N. A. (2012a) ‘Endosymbiotic bacteria as a source of carotenoids in whiteflies’, *Biology Letters*, 8(9), pp. 986–989. doi: 10.1098/rsbl.2012.0664.
- Sloan, D. B. and Moran, N. A. (2012b) ‘Genome reduction and co-evolution between the primary and secondary bacterial symbionts of psyllids’, *Molecular Biology and Evolution*, 29(12), pp. 3781–3792. doi: 10.1093/molbev/mss180.
- Sochard, C., Bellec, L., *et al.* (2021) ‘Influence of “ protective ” symbionts throughout the different steps of an aphid – parasitoid interaction’, *Current Zoology*, 67(4), pp. 441–453. doi: 10.1093/cz/zoaa053.
- Sochard, C., Le Floch, M., *et al.* (2021) ‘Limited influence of gain and loss of symbionts on host plant selection in specialized pea aphid genotypes’, *Entomologia Generalis*, 41(1), pp. 39–47.
- Sochard, C., Dupont, C., *et al.* (2021) ‘Secondary symbionts affect foraging capacities of plant-specialized genotypes of the pea aphid’, *Microbial Ecology*, 82(4), pp. 1009–1019. doi: 10.1007/s00248-021-01726-7.
- Stansly, P. A. *et al.* (2010) *Bemisia: bionomics and management of a global pest*. Edited by S. S. M. B.V. Dordrecht Heidelberg London New York. doi: 10.1007/978-90-481-2460-2.

- Stout, M. J., Thaler, J. S. and Thomma, B. P. H. J. (2006) ‘Plant-mediated interactions between pathogenic microorganisms and herbivorous arthropods’, *Annual Review of Entomology*, 51(1), pp. 663–689. doi: 10.1146/annurev.ento.51.110104.151117.
- Su, Q. *et al.* (2015) ‘The whitefly-associated facultative symbiont *Hamiltonella defensa* suppresses induced plant defences in tomato’, *Functional Ecology*, 29(8), pp. 1007–1018. doi: 10.1111/1365-2435.12405.
- Szklarczyk, T. and Michalik, A. (2017) ‘Transovarial transmission of symbionts in insects’, in *Oocytes*, pp. 43–67. doi: 10.1007/978-3-319-60855-6.
- Teixiera, L., Ferreira, A. and Ashburner, M. (2008) ‘The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster*’, *PLoS Biology*, 6(12), pp. 2753–2763. doi: 10.1371/journal.pbio.1000002.
- Terraz, G. *et al.* (2014) ‘Nuclear and cytoplasmic differentiation among Mediterranean populations of *Bemisia tabaci*: Testing the biological relevance of cytotypes’, *Pest Management Science*, 70(10), pp. 1503–1513. doi: 10.1002/ps.3792.
- Thairu, M. W., Cheng, S. and Hansen, A. K. (2018) ‘A sRNA in a reduced mutualistic symbiont genome regulates its own gene expression’, *Molecular Ecology*, 27(Suppl), pp. 1766–1776. doi: 10.1111/ijlh.12426.
- Thairu, M. W. and Hansen, K. (2019) ‘Changes in aphid host plant diet influence the small-RNA expression profiles of its obligate nutritional symbiont, *Buchnera*’, *mBio*, 10(6), pp. 1–14.
- Thao, M. L. and Baumann, P. (2004) ‘Evolutionary relationships of primary prokaryotic endosymbionts of whiteflies and their hosts’, *Applied and Environmental Microbiology*, 70(6), pp. 3401–3406. doi: 10.1128/AEM.70.6.3401-3406.2004.
- Theis, K. R. *et al.* (2016) ‘Getting the Hologenome Concept Right: an Eco-Evolutionary Framework for Hosts and Their Microbiomes’, *mSystems*, 1(2). doi: 10.1128/msystems.00028-16.
- Therneau, T. M. (2021) ‘A package for survival analysis in R.’ Available at: <https://cran.r-project.org/package=survival>.
- Thompson, W. M. O. (2006) ‘Influence of amino acids on cassava biotype *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) when feeding on an artificial system’, *Journal of Entomology*, 3(3), pp. 198–203. doi: 10.3923/je.2006.198.203.
- Thompson, W. M. O. (2011) ‘The performance of viruliferous and non-viruliferous cassava biotype *Bemisia tabaci* on amino acid diets’, in Thompson, W. M. O. (ed.) *The whitefly, Bemisia tabaci (Homoptera: Aleyrodidae) interaction with Geminivirus-infected host plants*. Dordrecht: Springer, pp. 165–180. doi: 10.1007/978-94-007-1524-0.
- Tian, P.-P. *et al.* (2019) ‘Infections with *Arsenophonus* facultative endosymbionts alter performance of aphids (*Aphis gossypii*) on an amino-acid-deficient diet’, *Applied and Environmental Microbiology*, 85(23), pp. 1–11. doi: 10.1128/AEM.01407-19.
- Tillman, J. A. *et al.* (1999) ‘Insect pheromones — an overview of biosynthesis and endocrine regulation’, *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 29(6), pp. 481–514.
- Tipton, L., Darcy, J. L. and Hynson, N. A. (2019) ‘A developing symbiosis : enabling cross-talk between ecologists and microbiome scientists’, *Frontiers in Microbiology*, 10(292), pp.

- 1–10. doi: 10.3389/fmicb.2019.00292.
- Tsuchida, T. *et al.* (2002) ‘Diversity and geographic distribution of secondary endosymbiotic bacteria in natural populations of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*’, *Molecular Ecology*, 11(10), pp. 2123–2135. doi: 10.1046/j.1365-294x.2002.01606.x.
- Tsuchida, T., Koga, R. and Fukatsu, T. (2004) ‘Host plant specialization governed by facultative symbiont’, *Science*, 303(3), p. 1989. doi: 10.1126/science.1094611.
- Tukey, J. W. (1949) ‘Comparing individual means in the analysis of variance’, *international Biometric Society*, 5(2), pp. 99–114.
- Turnbough, C. L. J. (2019) ‘Regulation of Bacterial Gene Expression by Transcription Attenuation’, *mBio*, 83(3), pp. 1–25. doi: 10.1128/MMBR.00019-19.
- Tzuri, N. *et al.* (2020) ‘Horizontal transmission of microbial symbionts within a guild of fly parasitoids’, *Microbial Ecology*, 81(3), pp. 1–10. doi: 10.1007/s00248-020-01618-2.
- Upadhyay, S. K. *et al.* (2011) ‘RNA interference for the control of whiteflies (*Bemisia tabaci*) by oral route’, *Journal of Biosciences*, 36(1), pp. 153–161. doi: 10.1007/s12038-011-9009-1.
- Upadhyay, S. K. *et al.* (2015) ‘Whitefly genome expression reveals host-symbiont interaction in amino acid biosynthesis’, *PLoS ONE*, 10(5), pp. 1–16. doi: 10.1371/journal.pone.0126751.
- Upadhyay, S. K. *et al.* (2016) ‘Molecular characterization of vitellogenin and vitellogenin receptor of *Bemisia tabaci*’, *PLoS ONE*, 11(5), pp. 1–18. doi: 10.1371/journal.pone.0155306.
- Vale, P. F. *et al.* (2018) ‘The influence of parasites on insect behavior’, in Córdoba-Aguilar, A., González-Tokman, D., and González-Santoyo, I. (eds) *Insect behavior*. 1st edn. Glasgow: Oxford University Press, pp. 274–291. doi: 10.1093/oso/9780198797500.003.0018.
- Vavre, F. *et al.* (1999) ‘Phylogenetic evidence for horizontal transmission of *Wolbachia* in host-parasitoid associations’, *Molecular Biology and Evolution*, 16(12), pp. 1711–1723. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026084.
- Vavre, F. *et al.* (2001) ‘Within-species diversity of *Wolbachia* induced cytoplasmic incompatibility in haplodiploid insects’, *Evolution*, 55(8), pp. 1710–1714. doi: 10.1111/j.0014-3820.2001.tb00691.x.
- Vavre, F. and Kremer, N. (2014) ‘Microbial impacts on insect evolutionary diversification: from patterns to mechanisms’, *Current Opinion in Insect Science*, 4(1), pp. 29–34. doi: 10.1016/j.cois.2014.08.003.
- Vigneron, A. *et al.* (2014) ‘Insects recycle endosymbionts when the benefit is over’, *Current Biology*, 24(19), pp. 2267–2273. doi: 10.1016/j.cub.2014.07.065.
- Viñuelas, J. *et al.* (2007) ‘Conservation of the links between gene transcription and chromosomal organization in the highly reduced genome of *Buchnera aphidicola*’, *BMC Genomics*, 8(143), pp. 1–12. doi: 10.1186/1471-2164-8-143.
- Viñuelas, J. *et al.* (2011) ‘Multimodal dynamic response of the *Buchnera aphidicola* pLeu plasmid to variations in leucine demand of its host, the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*’, *Molecular Microbiology*, 81(5), pp. 1271–1285. doi: 10.1111/j.1365-2958.2011.07760.x.

- Vyskočilová, S. *et al.* (2018) ‘An integrative approach to discovering cryptic species within the *Bemisia tabaci* whitefly species complex’, *Scientific Reports*, 8(10886), pp. 1–13. doi: 10.1038/s41598-018-29305-w.
- Vyskočilová, S., Seal, S. and Colvin, J. (2019) ‘Relative polyphagy of “Mediterranean” cryptic *Bemisia tabaci* whitefly species and global pest status implications’, *Journal of Pest Science*. Springer Berlin Heidelberg, 92(3), pp. 1071–1088. doi: 10.1007/s10340-019-01113-9.
- Wagner, S. M. *et al.* (2015) ‘Facultative endosymbionts mediate dietary breadth in a polyphagous herbivore’, *Functional Ecology*, 29(11), pp. 1402–1410. doi: 10.1111/1365-2435.12459.
- Wallin, I. E. (1927) *Symbiogenesis and the origin of species*. 1st edn. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Walling, L. L. (2008) ‘Avoiding Effective Defenses : Strategies Employed by Phloem-Feeding Insects’, *Plant Physiology*, 146(March), pp. 859–866. doi: 10.1104/pp.107.113142.
- Wang, H. *et al.* (2013) ‘The characteristics and expression profiles of the mitochondrial genome for the Mediterranean species of the *Bemisia tabaci* complex’, *BMC Genomics*, 14(1), pp. 1–15. doi: 10.1186/1471-2164-14-401.
- Wang, H. *et al.* (2019) ‘Insight into the microbial world of *Bemisia tabaci* cryptic species complex and its relationships with its host’, *Scientific Reports*, 9(6568), pp. 1–15. doi: 10.1038/s41598-019-42793-8.
- Wang, H. *et al.* (2020) ‘A newly recorded *Rickettsia* of the Torix group is a recent intruder and an endosymbiont in the whitefly *Bemisia tabaci*’, *Environmental microbiology*, 22(4), pp. 1207–1221. doi: 10.1111/1462-2920.14927.
- Wang, Y.-B. *et al.* (2020) ‘Intracellular symbionts drive sex ratio in the whitefly by facilitating fertilization and provisioning of B vitamins’, *ISME Journal*, 14(12), pp. 2923–2935. doi: 10.1038/s41396-020-0717-0.
- Weibull, J. (1987) ‘Seasonal changes in the free amino acids of oat and barley phloem sap in relation to plant growth stage and growth of *Rhopalosiphum padi*’, *Annals of Applied Biology*, 111(3), pp. 729–737. doi: 10.1111/j.1744-7348.1987.tb02031.x.
- Weibull, J., Ronquist, F. and Brishammar, S. (1990) ‘Free amino acid composition of leaf exudates and phloem sap: a comparative study in oats and barley’, *Plant Physiology*, 92(1), pp. 222–226. doi: 10.1104/pp.92.1.222.
- Weiss, B. and Kaltenpoth, M. (2016) ‘Bacteriome-localized intracellular symbionts in pollen-feeding beetles of the genus *Dasytes* (Coleoptera, Dasytidae)’, *Frontiers in Microbiology*, 7(9), pp. 1–10. doi: 10.3389/fmicb.2016.01486.
- Wernegreen, J. J. (2015) ‘Endosymbiont evolution: Predictions from theory and surprises from genomes’, *Annals of the new york academy of sciences*, 1360(1), pp. 16–35. doi: 10.1111/nyas.12740.Endosymbiont.
- Werren, J. H., Baldo, L. and Clark, M. E. (2008) ‘*Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology’, *Nature Reviews Microbiology*, 6, pp. 741–751. doi: 10.1038/nrmicro1969.
- Wille, B. D. and Hartman, G. L. (2008) ‘Evaluation of artificial diets for rearing *Aphis glycines* (Hemiptera : Aphididae)’, *Entomological Society of America*, 101(4), pp. 1228–1232.

- Wilson, A. C. C. *et al.* (2010) ‘Genomic insight into the amino acid relations of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, with its symbiotic bacterium *Buchnera aphidicola*’, *Insect Molecular Biology*, 19(Suppl. 2), pp. 249–258. doi: 10.1111/j.1365-2583.2009.00942.x.
- Wong, A. C. *et al.* (2017) ‘Gut microbiota modifies olfactory-guided microbial preferences and foraging decisions in *Drosophila*’, *Current Biology*. Elsevier Ltd., 27(15), pp. 2397–2404. doi: 10.1016/j.cub.2017.07.022.
- Xia, J. *et al.* (2021) ‘Whitefly hijacks a plant detoxification gene that neutralizes plant toxins’, *Cell*, 184(7), pp. 1693–1705. doi: 10.1016/j.cell.2021.02.014.
- Xu, J., Barro, P. J. De and Liu, S. S. (2010) ‘Reproductive incompatibility among genetic groups of *Bemisia tabaci* supports the proposition that the whitefly is a cryptic species complex’, *Bulletin of entomological research*, 100(3), pp. 359–366. doi: 10.1017/S0007485310000015.
- Xu, X. *et al.* (2019) ‘Patterns of host cell inheritance in the bacterial symbiosis of whiteflies’, *Insect Science*, 27(5), pp. 1–9. doi: 10.1111/1744-7917.12708.
- Yang, J. *et al.* (2020) ‘Phenolics, rather than glucosinolates, mediate host choice of *Bemisia tabaci* MEAM1 and MED on five cabbage genotypes’, *Journal of Applied Entomology*, 144(4), pp. 1–10. doi: 10.1111/jen.12737.
- Yang, K. *et al.* (2021) ‘First evidence for thermal tolerance benefits of the bacterial symbiont *Cardinium* in an invasive whitefly, *Bemisia tabaci*’, *Pest Management Science*, 77(11), pp. 5021–5031. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.6543>.
- Ying, L. *et al.* (2021) ‘Effect of *Cardinium* infection on the probing behavior of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) MED’, *Journal of Insect Science*, 21(3), pp. 1–6. doi: 10.1093/jisesa/ieab040.
- Zchori-Fein, E. and Bourtzis, K. (2012) *Manipulative Tenants: Bacteria Associated with Arthropods*. 1st Editio. Edited by CRC Press. doi: <https://doi.org/10.1201/b11008>.
- Zchori-fein, E. and Brown, J. K. (2002) ‘Diversity of prokaryotes associated with *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae)’, *Ecology and population biology*, 95(6), pp. 711–718. doi: 10.1603/0013-8746(2002)095[0711:DOPAWB]2.0.CO;2.
- Zchori-Fein, E., Lahav, T. and Freilich, S. (2014) ‘Variations in the identity and complexity of endosymbiont combinations in whitefly hosts’, *Frontiers in Microbiology*, 5(310), pp. 1–8. doi: 10.3389/fmicb.2014.00310.
- Zhang, C. R. *et al.* (2015) ‘Differential temporal changes of primary and secondary bacterial symbionts and whitefly host fitness following antibiotic treatments’, *Scientific Reports*. Nature Publishing Group, 5(1), pp. 1–12. doi: 10.1038/srep15898.
- Zhang, Q. *et al.* (2021) ‘Plant flavonoids enhance the tolerance to thiamethoxam and flupyradifurone in whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae)’, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 171(1), pp. 1–8. doi: 10.1016/j.pestbp.2020.104744.
- Zhang, T. *et al.* (2012) ‘Begomovirus-whitefly mutualism is achieved through repression of plant defences by a virus pathogenicity factor’, *Molecular Ecology*, 21(5), pp. 1294–1304. doi: 10.1111/j.1365-294X.2012.05457.x.
- Zhang, X. *et al.* (2015) ‘Comparison of the antennal sensilla ultrastructure of two cryptic species in *Bemisia tabaci*’, *PLoS ONE*, 10(3), pp. 1–12. doi: 10.1371/journal.pone.0121820.

- Zhao, D.-X. *et al.* (2019) 'Selective and stable elimination of endosymbionts from multiply infected whitefly *Bemisia tabaci* by feeding on a cotton plant cultured in antibiotic solutions', *Insect Science*, 27(5), pp. 964–974. doi: 10.1111/1744-7917.12703.
- Zhu, D. *et al.* (2019) 'Conservation of transcriptional elements in the obligate symbiont of the whitefly *Bemisia tabaci*', *PeerJ*, 7(9), pp. 1–16. doi: 10.7717/peerj.7477.
- Zhu, D. *et al.* (2021) 'Genomic and transcriptomic analyses reveal metabolic complementarity between whiteflies and their symbionts', *Insect Science*, pp. 1–27. doi: 10.1111/1744-7917.12943.This.
- Zilber-rosenberg, I. and Rosenberg, E. (2008) 'Role of microorganisms in the evolution of animals and plants : the hologenome theory of evolution', *FEMS Microbiology Reviews*, 32(723), p. 735. doi: 10.1111/j.1574-6976.2008.00123.x.
- Zytynska, S., Tighiouart, K. and Frago, E. (2021) 'Benefits and costs of hosting facultative symbionts in plant-sucking insects: a meta-analysis', *Molecular Ecology*, 30(11), pp. 2483–2494. doi: DOI: 10.1111/mec.15897.

ANNEXE – Curriculum Vitae

DIPLOMES ET FORMATION

Nov. 2018 – Mars 2022 (en cours)	Doctorat Influence des symbiotes sur l'utilisation et la sélection de la plante hôte chez <i>Bemisia tabaci</i> <i>Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive (LBBE)</i> Université de Lyon, Université Lyon 1, CNRS, VetAgro Sup, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, UMR 5558, Villeurbanne, France <i>Laboratoire Biologie Fonctionnelle, Insectes et Interactions (BF2i)</i> Univ Lyon, INRAE, INSA Lyon, BF2I, UMR 203, Villeurbanne, France	Université de Lyon Villeurbanne, France
Sept. 2017 – Août 2018	Master 2 Innovation en Qualité et Productions Végétales <i>Amélioration des plantes et biotechnologies, santé végétale</i>	Université Paris-Saclay Gif-sur-Yvette, France
Sept. 2016 – Juill. 2017	Master 1 Protection des plantes et agroenvironnement <i>Protection des plantes, statistiques, écotoxicologie</i>	Université Côte d'Azur Nice, France
Sept. 2013 – Juin 2016	Licence Sciences de la Vie et de la Santé <i>Biologie, écologie, sciences du végétal</i>	Université Côte d'Azur Nice, France

EXPERIENCES ACADÉMIQUES ET PROFESSIONNELLES

Mars 2018 – Août 2018 (6mois)	Stage de Master 2. Etude du comportement et de la performance de populations résistantes de <i>Myzus persicae</i>, le puceron vert du pêcher, sur différentes plantes hôtes <i>ANSES Laboratoire de Lyon, Caractérisation et suivi des phénomènes d'évolution de résistance aux produits de protection des plantes (Lyon, France)</i>	
	Evaluation des traits d'histoire de vie de populations d'insectes sur différentes plantes hôtes : Collecte d'échantillons sur le terrain, élaboration et réalisation de protocoles expérimentaux, synthèse bibliographique, et analyse statistique des résultats obtenus	
Fevr. 2017 – Juill. 2017 (6mois)	Stage de Master 1. Recherche de biopesticides potentiels pour lutter contre <i>Bemisia tabaci</i> et <i>Macrosiphum euphorbiae</i> en culture de tomate <i>INRAE, Ecologie des Communautés inféodées aux Agrosystèmes (Sophia-Antipolis, France)</i>	
	Evaluation de l'activité insecticide et phytotoxique d'huiles essentielles végétales : élaboration et réalisation de bioessais d'efficacité de préparations phytopharmaceutiques et de substances naturelles insecticides, synthèse bibliographique, analyse statistique des résultats obtenus.	
Juin 2016 – Juill. 2016 (2 mois)	Technicien <i>INRAE, Ecologie des Communautés inféodées aux Agrosystèmes (Sophia-Antipolis, France).</i>	
	Mise en place et suivi d'essais en serre et en laboratoire, élevage d'insectes et entretien des cultures.	

Articles publiés

Benhamou S., Rahioui I, Henri H, Charles H, Da Silva P, Heddi A, Vavre F, Desouhant E, Calevro F, Mouton L. 2021. Cytotype affects the capability of the whitefly *Bemisia tabaci* MED species to feed and oviposit on an unfavorable host plant. *mBio* 12: e00730-21. <https://doi.org/10.1128/mBio.00730-21>.

Dunan L, Malanga T, Bearez P, **Benhamou S.**, Monticelli LS, Desneux N, Michel T, Lavoit A-V. Biopesticide Evaluation from Lab to Greenhouse Scale of Essential Oils Used against *Macrosiphum euphorbiae*. *Agriculture*. 2021; 11(9):867. <https://doi.org/10.3390/agriculture11090867>

Articles en préparation

Benhamou S., Calevro F, Desouhant E, Heddi A, Henri H, Mouton L, Vavre F. Oviposition behavior is determined by the cytotyping in the whitefly *Bemisia tabaci*.

CONFÉRENCES

Posters

Benhamou S., Rahioui I., Da Silva P., Desouhant E., Heddi A., Vavre F., Calevro F., Mouton L. (2021) **Influence of bacterial symbionts on host niche and ecological diversification: an integrative approach in a whitefly model.** ICE2020, XXVI International Congress of Entomology, Juillet 2021, Helsinki, Finlande.

Benhamou S., Rahioui I., Desouhant E., Heddi A., Vavre F., Calevro F., Mouton L. (2019) **Influence of bacterial symbionts on host niche and ecological diversification: a metabolic approach in a whitefly model.** Microbiome 2019, Auvergne-Rhône-Alpes Regional Workshop on Microbiome, Novembre 2019, Lyon, France.

Benhamou S., Rahioui I., Desouhant E., Heddi A., Vavre F., Calevro F., Mouton L. (2019) **Influence of bacterial symbionts on host niche and ecological diversification: a metabolic approach in a whitefly model.** REID-IMMUNINV 2019, Réseau Ecologie des Interactions Durables et le réseau Immunologie des Invertébrés, Mai 2019, Montpellier, France.

Participation à des Congrès/Séminaires

Benhamou S., Rahioui I., Da Silva P., Desouhant E., Heddi A., Vavre F., Calevro F., Mouton L. (2021). **Influence of symbionts on insect's ecological diversification: cytotyping influences exploitation of an unfavorable host plant in the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae).** Decrypt'thèse, Mai 2021, Lyon, France

Benhamou S., Rahioui I., Da Silva P., Desouhant E., Heddi A., Vavre F., Calevro F., Mouton L. (2021). **Role of symbionts in insects' ecological diversification: cytotyping influences exploitation of an unfavorable host plant in the whitefly *B. tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae).** G-RREMI meetings, Groupe Régional de Recherche en Microbiologie des Interactions, Février 2021, Lyon, France

Benhamou S., Rahioui I., Da Silva P., Desouhant E., Heddi A., Vavre F., Calevro F., Mouton L. (2021). **Cytotype influences exploitation of an unfavorable host plant in the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae).** Séminaire interne, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, Février 2021, Lyon, France.

Benhamou S., Rahioui I., Da Silva P., Desouhant E., Heddi A., Vavre F., Calevro F., Mouton L. (2020). **Influence of symbionts on host niche.** Séminaire interne, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, Juin 2020, Lyon, France.

Benhamou S., Rahioui I., Da Silva P., Desouhant E., Heddi A., Vavre F., Calevro F., Mouton L. (2020). **Rôle de symbiotes dans la diversification écologique des insectes : influence sur le choix et l'adaptation à la plante hôte et le choix de partenaire sexuel.** Séminaire interne, Laboratoire de Biologie Fonctionnelle Insecte et Interactions, Janvier 2020, Lyon, France.

Benhamou S., Desouhant E., Vavre F., Calevro F., Mouton L. (2019). **Influence of symbionts on their host niche and partner's choice.** PISI-net, 2 nd annual meeting of Japan-France Plant-Insect-Symbiont interaction network, Novembre 2019, Le Rheu, France.

Benhamou S., Desouhant E., Vavre F., Calevro F., Mouton L. (2019). **Influence of symbionts on their host behaviour, ecology and diversification.** Réunion du projet Micro-be-have, Octobre 2019, Lyon, France

Benhamou S., Desouhant E., Vavre F., Calevro F., Mouton L. (2019). **Influence des symbiotes sur la niche écologique et le choix de partenaire de l'hôte.** Réunion du projet Micro-be-have, Mars 2019, Lyon, France

Benhamou S., Desouhant E., Vavre F., Calevro F., Mouton L. (2019). **Influence of symbionts on host niche and partner's choice.** Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, décembre Janvier 2019, Lyon, France.

PROFIL SCIENTIFIQUE ET COMPÉTENCES

Excellente maîtrise de l'expérimentation sur insectes (mesures biologiques et comportementales)
Conception, réalisation et analyse d'essais d'efficacité insecticide de préparations phytopharmaceutiques et de substances naturelles
Excellente maîtrise de l'élevage d'insectes (aleurodes, pucerons, guêpes parasitoïdes, coccinelles, lépidoptères)
Solide connaissance du langage de programmation R
Bonnes connaissances en statistiques descriptives et probabilistes
Connaissances pratiques et analytiques en biologie moléculaire (extraction d'ADN, PCR, qPCR)
Connaissances pratiques et analytiques en biochimie (HPLC, GC-MS)
Connaissance des processus d'homologation des préparations phytopharmaceutiques (législation UE)
Langues : français (langue maternelle), très bonne maîtrise de l'anglais écrit et oral

ENSEIGNEMENT ET ENCADREMENT

Sept. 2019 – Sept. 2021	AIDE COMPLEMENTAIRE A L'ENSEIGNEMENT (ACE) (128 heures)	UCB – Lyon 1
	Licence 2 Sciences de la vie	Biostatistiques et bioinformatique (TD : 29h, TP : 9h)
	Licence 2 Sciences de la vie	Génétique (TP : 60h)
	Licence STS	Recherche documentaire (30h)
Avr. 2021 – Mai 2021	ENCADRANT (2 mois)	UCB – Lyon 1
	Stagiaire de Master 1 (Océane CHANNEL). Influence du cortège de bactéries symbiotiques sur les capacités métaboliques de l'aleurode du tabac <i>Bemisia tabaci</i> (Master Biodiversité, Ecologie, Evolution, UCB-Lyon1).	

ABSTRACT

Microbial symbionts are universal in eukaryotes, and it is now recognized that symbiotic associations represent a major source of biological and evolutionary innovation. However, the extent to which symbionts contribute to their hosts' ecological adaptation and subsequent diversification is far from being fully elucidated. The tobacco whitefly *Bemisia tabaci* is a highly diversified cryptic species complex. All members of this species complex are associated with an obligate, so-called 'primary' symbiont, *Portiera aleyrodidarum*, which is essential to its host survival. *Portiera* provides *B. tabaci* with nutrients (amino acids, vitamins) that are essential for its development and growth, nevertheless limiting in its diet, the plant phloem sap. As in many phloemophageous insects, most *B. tabaci* individuals also host one or more facultative 'secondary' symbionts whose roles remain poorly known. In this project, we investigated whether and how secondary symbionts influence host plant utilization and selection by *B. tabaci*, using three lines differing in their secondary symbiont community. To better apprehend the interactions between *B. tabaci*, its symbionts and plants, we first analyzed the life history traits and physiology of these three lines when reared on three host plants with significantly different nutritional properties (amino acid content): hibiscus, tobacco and lantana. We showed that insect performance, free amino acid and symbiont density depend on the host plant species, suggesting a critical role for the plant nutritional properties. Insects reared on lantana showed a different free amino acid profile than insects reared on the other plants, higher symbiont density, and reduced fecundity. Together, these results indicate that lantana is the least favorable plant for *B. tabaci* of the three plants tested. These results allowed us to establish a framework in which we investigated the relative contributions of the insect nuclear genotype and cytotype (corresponding to the cytoplasmic compartment of an individual, including its symbiont and mitochondria) to *B. tabaci* life history traits and physiology on these favorable and unfavorable plants, and the consequences on the insect's plant choice for oviposition. Using genetically homogeneous hybrids associated to different cytotypes (corresponding to the cytoplasmic compartment of an individual, including its symbiont and mitochondria), we showed that cytotype affects *B. tabaci* fecundity and amino acid profile on lantana. Our plant choice experiments showed that cytotype also influences the behavior of *B. tabaci*. Indeed, females with cytotype associated to higher fecundity on lantana choose this plant more frequently to lay their eggs. Finally, using chemically defined artificial diets, we demonstrate that cytotype affects whiteflies capacity to produce eggs upon a nutritional deficiency involving specific amino acids (isoleucine, leucine and valine). This result could partly explain the influence of the cytotype on the capability of the insect to feed and oviposit on lantana. As cytotypes differ in their secondary symbiont community, we propose that these symbionts may mediate whiteflies' suitable plant range, potentially through their impact on their hosts' amino acid metabolism and dietary requirements. This work provides a better understanding of the influence of symbionts on the metabolism, behavior and ecology of whiteflies. Furthermore, the influence of secondary symbionts on whiteflies' suitable plant range also raises the question of the role played by these symbionts in the ecological diversification of the *B. tabaci* species complex.

Keywords: Symbiosis, *Bemisia tabaci*, Cytotype, Plant utilization, Plant selection

Les symbiotes microbiens sont universels chez les eucaryotes, et il est désormais admis que les associations symbiotiques représentent une source d'innovation biologique et évolutive. Cependant, la contribution des symbiotes à l'adaptation écologique et la diversification de leurs hôtes est encore méconnue. L'aleurode du tabac *Bemisia tabaci* est un complexe d'espèces cryptiques très diversifié. Tous les membres de ce complexe sont associés à un symbiote obligatoire, dit 'primaire', *Portiera aleyrodidarum*, qui est indispensable à la survie de son hôte. *Portiera* fournit à *B. tabaci* des nutriments (acides aminés, vitamines) essentiels à son développement et à sa croissance, mais qui sont très peu représentés dans son régime alimentaire, la sève phloémienne des plantes. Comme chez beaucoup d'insectes phloémophages, la plupart des individus de *B. tabaci* hébergent également un ou plusieurs symbiotes facultatifs, dits 'secondaires', dont les rôles ne sont pas encore totalement élucidés. Dans cette thèse, nous avons exploré si et comment les symbiotes secondaires influencent l'utilisation et la sélection de la plante hôte par *B. tabaci*, en utilisant trois lignées associées à différents cortèges symbiotiques. Afin de mieux appréhender les interactions entre *B. tabaci*, ses symbiotes et les plantes, nous avons d'abord analysé les traits d'histoire de vie et la physiologie de ces trois lignées quand elles sont élevées sur trois plantes dont les propriétés nutritives (contenu en acides aminés) diffèrent significativement : l'hibiscus, le tabac et le lantana. Nous avons ainsi montré que la performance, le profil en acides aminés libres et la densité symbiotique des insectes sont dépendants de la plante hôte, ce qui pourrait être partiellement expliqué par des différences dans leurs propriétés nutritives. Les insectes élevés sur le lantana ont montré un profil en acides aminés libres différent de ceux élevés sur les autres plantes, une densité symbiotique plus élevée, et une fécondité réduite. Ensemble, ces résultats indiquent que le lantana est la moins favorable pour *B. tabaci* des trois plantes testées. Ce premier travail nous a ensuite permis de tester les contributions relatives du génotype nucléaire et du cytotype (correspondant au compartiment cytoplasmique d'un individu, dont ses symbiotes et ses mitochondries) aux traits d'histoire de vie et à la physiologie de *B. tabaci* sur ces plantes favorables et moins favorables, et les conséquences sur son choix de plante pour la ponte. En utilisant des femelles hybrides de même génotype mais avec différents cytotypes, nous avons montré que le cytotype influence la fécondité et le profil en acides aminés libres de *B. tabaci* sur le lantana. Nos expériences de choix de plante ont montré que le cytotype influence également le comportement de *B. tabaci*. En effet, les femelles des cytotypes associés à une meilleure fécondité sur le lantana choisissent plus fréquemment cette plante pour y pondre leurs œufs. Enfin, grâce à l'utilisation de milieux nutritifs artificiels de composition contrôlée, nous avons montré que le cytotype influence la fécondité de *B. tabaci* lors d'une carence nutritionnelle impliquant des acides aminés spécifiques (isoleucine, leucine et valine). Ce résultat pourrait expliquer en partie l'influence du cytotype sur la capacité de l'insecte à exploiter le lantana. Etant donné que les cytotypes ont des cortèges de symbiotes secondaires différents, nous proposons que ces symbiotes influencent la gamme de plantes hôtes favorables à *B. tabaci*, potentiellement à travers leur impact sur le métabolisme des acides aminés de l'insecte. Ces travaux permettent de mieux comprendre l'influence des symbiotes sur le métabolisme, le comportement et l'écologie de *B. tabaci*. Par ailleurs, l'influence des symbiotes secondaires sur la gamme de plante hôtes favorables à *B. tabaci* soulève également la question du rôle joué par ces derniers dans la diversification écologique de ce complexe d'espèces.

Mots clefs : Symbiose, *Bemisia tabaci*, Cytotype, utilisation de la plante, sélection de la plante