



Réponses adaptatives chez *Drosophila suzukii*, une espèce généraliste envahissante

Laure Olazcuaga

► To cite this version:

Laure Olazcuaga. Réponses adaptatives chez *Drosophila suzukii*, une espèce généraliste envahissante. Evolution [q-bio.PE]. Montpellier SupAgro; INRA, 2019. Français. NNT : . tel-03142174v1

HAL Id: tel-03142174

<https://hal.inrae.fr/tel-03142174v1>

Submitted on 15 Feb 2021 (v1), last revised 25 May 2023 (v2)

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.

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE MONTPELLIER SUPAGRO

En Sciences de l'Évolution et de la Biodiversité

École doctorale GAIA – Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau

Unité de recherche : Centre de Biologie pour la Gestion des Populations (CBGP)

Réponses adaptatives chez *Drosophila suzukii*, une espèce généraliste envahissante

Présentée par Laure OLAZCUAGA
Le 13 décembre 2019

Sous la direction de Arnaud Estoup
et Mathieu Gautier

Devant le jury composé de

Fabrice Roux, Directeur de Recherche, CNRS Toulouse
Sara Magalhães, Professeure assistante, Université de Lisbonne
Thomas Guillemaud, Directeur de Recherche, INRA Nice
Stéphanie Bedhomme, Chargée de Recherche, CNRS Montpellier

Arnaud Estoup, Directeur de Recherche, INRA Montpellier
Mathieu Gautier, Directeur de Recherche, INRA Montpellier

Président du jury
Rapporteuse
Rapporteur
Examinatrice

Directeur de thèse
Co-Directeur de thèse



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER



Remerciements

Avant tout, je souhaite remercier Sara Magalhães, Stéphanie Bedhomme, Fabrice Roux et Thomas Guillemaud d'avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse. Je remercie également les membres de mon comité de thèse, et particulièrement Thomas Lenormand pour ses commentaires pertinents et avisés.

Je remercie Arnaud Estoup et Mathieu Gautier, mes directeurs de thèse, pour avoir eu confiance en moi, avant même que ma thèse commence, ainsi que tout au long de sa durée. Je suis reconnaissante de toutes les libertés que vous m'avez laissées. Grâce à toi, Arnaud, j'ai compris que la recherche c'est avant tout une aventure humaine. Je te remercie notamment pour ta bienveillance. Mathieu, merci d'avoir investi du temps pour m'initier à la bio-informatique. Sans le savoir, tu as plusieurs fois apporté de la sérénité dans certains de mes moments de panique. Vos profils complémentaires m'ont beaucoup apporté durant ma thèse, mais pour l'avenir également.

Je souhaite particulièrement remercier Nicolas Rode, qui a été pour moi essentiel pour le déroulement de cette thèse. Merci de m'avoir sortie de ma zone de confort, même si ça a souvent été chronophage, j'ai beaucoup appris à tes côtés. Je remercie également Julien Foucaud, pour ses conseils avisés sur le déroulement de la thèse. Merci aussi pour tes retours notamment sur mes designs expérimentaux. Je tiens également à remercier Ruth Hufbauer qui a souvent eu plus confiance en moi que moi-même. Venir aux USA a été une des meilleures expériences de ma thèse. Merci pour ton accueil chaleureux, ainsi que celle de ton équipe, avec un merci particulier à Marcel et Cetan. Je suis également très reconnaissante envers Benoit Facon et Virginie Ravigné, qui ont toujours trouvé du temps pour moi. Merci pour vos retours et pour votre implication dans ma thèse. J'ai eu la chance de pouvoir interagir avec une diversité de collaborateurs, qui m'ont chacun apporté de l'aide dans leur domaine d'expertise. Riche d'expériences, j'espère que nos échanges se poursuivront dans les années à venir.

J'apporte un remerciement chaleureux à Candice Deschamps. Merci d'avoir été un socle sur lequel j'ai pu m'appuyer pendant quelques mois. Grâce à toi, j'ai réussi à passer les temps difficiles des manips, de la thèse et du reste. Je remercie également Anne Loiseau pour sa présence tout au long de ma thèse, Nicolas Léménager pour sa bonne humeur et Philippe Audiot pour ses coups de main.

Je remercie tous les étudiants que j'ai eu la chance de former : Aleana Savage, Amélie Gagu, Lucille Benoit, Marie Bouilloud, Romain Vedovato et Jean-Loup Imbert. Sans exception, ça a été un réel plaisir de vous avoir à mes côtés, avec chacun vos qualités. J'ai probablement tout autant appris que vous. J'en profite pour remercier Benoit Nabholz et Pierrick Labbé de m'avoir permis de m'épanouir en enseignant à l'Université de Montpellier.

Je remercie tous les utilisateurs de la plateforme SEPA, où j'ai passé la majorité de ces trois dernières années. Je remercie les personnes qui ont eu un apport singulier sur ma thèse en terme scientifique mais également humain, particulièrement Allan Debelle, Julie Collet et Romain Gallet.

Plus généralement, j'ai une pensée émue pour tous les membres du CBGP qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de cette thèse. Il est impossible de nommer toutes les personnes qui m'ont aidé, pourtant je leur en suis grandement reconnaissante. Grâce à vous, j'ai réellement apprécié ces trois années de thèse que j'ai partagées dans une atmosphère agréable et conviviale. Un merci particulier à Joris Froissard, Nathalie Vieira, Sabine Nidelet, Laure Benoit et Anne-Laure Clamens, pour votre bonne humeur quotidienne et vos coups de main ponctuels. Merci à tous les thésards et stagiaires que j'ai pu côtoyer durant ma thèse. Un merci particulièrement à Orianne Tournayre, Robin Guilhot, Pierre Arnal, Mélodie Ollivier et Valentin Hivert de m'avoir accompagné dans cette aventure. Je remercie mes co-bureaux, et surtout Alexandre Dehne-Garcia, avec qui j'ai partagé de très bons moments et qui m'ont fait surmonter les mauvais.

Je souhaite remercier les femmes qui m'ont donné goût à la recherche et espoir dans l'avenir : Valérie Bolliet, Eva Lievens, Candice Deschamps et Ruth Hufbauer. J'espère un jour apporter à la communauté, même dans une moindre mesure, ce que vous m'avez apporté.

Je remercie également mes amis montpelliérains grâce à qui j'ai passé trois superbes années, particulièrement merci à Sylvain, Anne-so, Marion, Octavio, Juline, Thomas, Nico, et Gautier. Je remercie très chaleureusement ceux avec qui l'aventure Montpelliéraine a commencé, Estelle, Cédric, Valou, Maud, Paul et particulièrement Max, Suzie avec qui j'ai partagé au quotidien les bons et les mauvais moments.

Enfin, je voudrais remercier chaleureusement Alexis, Victor, Rémi et Thomas. Je remercie plus particulièrement Victor pour sa bonne humeur à toute épreuve, Alexis pour sa bienveillance et Rémi pour son aide inconditionnelle. Merci à Thomas pour tout ça, et le reste.

Cette thèse n'aurait pas été la même sans tous les encouragements que j'ai pu avoir, malgré la distance. Je remercie mes amis de toujours et particulièrement Arantxa, Audrey, Flora, Julie, Julien, Maylis, Xabina, Ximun, et bien sûr Adrien et Lora.

Je finirais par remercier ma famille pour leur soutien sans faille depuis le début. Je pense particulièrement à ma sœur et mes parents à qui je dois tant.

Table des matières

Table des figures	iii
Liste des tableaux	vi
Introduction	1
I Bases génomiques des adaptations associées au succès de l'invasion mondiale de <i>D. suzukii</i>	49
Manuscript A: A whole-genome scan for association with invasive success in the fruit fly <i>Drosophila suzukii</i> using contrasts of allele frequencies corrected for population structure	51
II Adaptation et spécialisation d'une espèce généraliste dans un environnement homogène	85
Manuscript B: Oviposition preference and larval performance of <i>Drosophila suzukii</i> (Diptera: Drosophilidae), spotted-wing drosophila: effects of fruit identity and composition	87
Manuscript C: Evolution of trade-offs across environments following experimental evolution of the generalist <i>Drosophila suzukii</i> to different fruit media	127
III Adaptation et spécialisation d'une espèce généraliste dans un environnement naturel hétérogène	163
Manuscript D: Natural populations of the fruit fly <i>Drosophila suzukii</i> show local adaptation patterns to alternating host fruits with genetic effects predominating over non-genetic effects	165
Discussion et perspectives	193
Références	213

Table des figures

Introduction

1	Grain de l'hétérogénéité.	6
2	Adaption chez <i>Escherichia coli</i>	8
3	Phénotypes mélanique et clair de <i>Biston betularia</i>	9
4	Changements de fréquences alléliques chez <i>D. melanogaster</i>	12
5	Effet de l'environnement sur le phénotype.	13
6	Assimilation génétique.	15
7	Patron d'adaptation locale mis en évidence par transplantation réciproque.	17
8	Etapes d'un processus d'invasion biologique.	21
9	Patron d'adaptation locale <i>vs.</i> spécialisation.	30
10	Formes des compromis en valeur sélective entre environnements.	32
11	<i>Drosophila suzukii</i>	41
12	Route d'invasion de <i>D. suzukii</i>	42

Manuscript A: A whole-genome scan for association with invasive success in the fruit fly *Drosophila suzukii* using contrasts of allele frequencies corrected for population structure

1	Evaluation of the performance of the C_2 contrast statistics on simulated data.	60
2	Whole-genome scan for association with invasive success in <i>D. suzukii</i>	62
3	Mapping of the three significant SNPs onto the <i>dmel6</i> reference genome.	66
S1	Distribution of the p-values computed on the simulated data (C_2).	78
S2	Distribution of the p-values computed on the simulated data (XtX).	79
S3	Correlation plot of the scaled covariance matrices.	80
S4	Distribution of the p-values (C_2).	81
S5	Comparison of the C_2 statistics with BF and with XtX*.	82
S6	Pairwise comparison of the q-values.	83

Manuscript B: Oviposition preference and larval performance of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae), spotted-wing drosophila: effects of fruit identity and composition

1	Boxplot of preference in each fruit media in the choice environment. . .	99
2	Boxplot of performance in each fruit media.	100
3	Effect of egg density on performance for each fruit.	101
4	Probability of emergence over time for each fruit medium.	102
5	Relationship between larval performance and adult preference.	103
6	Δ_{BIC} analysis for each nutrient compound.	104
S1	Principal component analysis of the chemical composition of fruits. . .	121
S2	Photograph of an arena.	122
S3	Photograph of tubes.	122
S4	Principal component analysis of the chemical composition of the 12 purees of fruits.	123
S5	Scatter diagram of a correlation circle of principal component analysis of the composition of the 12 purees of fruits.	124
S6	Relationship between phosphorus and adult preference.	125

Manuscript C: Evolution of trade-offs across environments following experimental evolution of the generalist *Drosophila suzukii* to different fruit media

1	Effect of the position of phenotypic optima relative to that of a starting population on the likelihood of evolving specialist genotypes.	132
2	Experimental evolution design depicting the different fruit media and the three phenotyping steps.	135
3	Population size over the first five generations of experimental evolution.	140
4	Performance during the initial phenotyping step, the intermediate phenotyping step and the final phenotyping step.	141
5	Performance of populations during the final phenotyping step measured on one fruit and on another fruit (test fruit), for the populations evolved in one of the two fruits (evolution fruit).	143
6	Differences between performance on sympatric and allopatric fruits during the final phenotyping step.	144
7	Proportions of eggs laid in a choice environment experiment.	145
A1	Distribution of p -values calculated using Blanquart et al. (2013)'s F-test.	152
A2	Evaluation of the performance of the method for varying magnitude of local adaptation.	153
A3	Evaluation of the performance of the method when varying several parameters.	154

S1	Principal component analysis of the chemical composition of the eight fruit purees.	156
S2	Sizes of the three pooled populations for generations 7 to 11.	157
S3	Evolution of the number of adults produced per tube at each generation on the evolution fruit.	158
S4	Proportion of variance explained by different effects on performance, oviposition stimulation and preference.	159
S5	Relationship between the performance of populations during the final phenotyping step measured in one fruit and in another fruit.	159
S6	Relationship between the number of emerging adults and the squared difference in fiber content between the evolution fruit and the test fruit.	160

Manuscript D: Natural populations of the fruit fly *Drosophila suzukii* show local adaptation patterns to alternating host fruits with genetic effects predominating over non-genetic effects

1	Geographic location of the 25 <i>D. suzukii</i> populations collected.	170
2	Expected relationship between the estimates of the interaction between the test environment and original environment.	173
3	Proportions of eggs laid on cherry, strawberry and blackberry in a choice environment experiment including 12 fruit media for fly populations from different host fruits.	176
4	Relationship between the estimates of the interaction between the test environment and original environment at generations G1 and G3.	178
5	Performance by fruit media for the fly populations from different host fruits.	179
A1	Evaluation of the performance of the method when varying several parameters.	187
S1	Representation of the experimental design.	189
S2	Oviposition preference by fruit media.	190
S3	Oviposition stimulation by fruit media.	190

Discussion et perspectives

1	Validation de l'effet de la variation génétique au gène <i>cpo</i> sur des caractères potentiellement liés au succès invasif.	198
2	Influence des micro-organismes sur le processus d'adaptation locale aux fruits-hôtes.	202
3	Corrélation hypothétique entre le nombre d'œufs pondus et la concentration en phosphore du milieu.	208

Liste des tableaux

Manuscript A: A whole-genome scan for association with invasive success in the fruit fly *Drosophila suzukii* using contrasts of allele frequencies corrected for population structure

1	Description of the 26 orthologous <i>D. melanogaster</i> genes.	65
S1	Description of the 22 <i>D. suzukii</i> population samples	77

Manuscript B: Oviposition preference and larval performance of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae), spotted-wing drosophila: effects of fruit identity and composition

1	Key information about the 12 fruits used in the experiments carried out in the present study.	93
2	Summary of results from the literature review.	106
S1	Key informations about the 12 fruits purees used in the experiments carried out in the present study.	114
S2	Recipe and reference of products used to make experimental fruit media.	115
S3	Review of the literature on the performance associated with host use by <i>D. suzukii</i>	116
S4	Review of the literature dealing with the study of the preference associated to host use by <i>D. suzukii</i>	117
S4	Continued	118
S5	Variables of the chemical composition of fruit media used in PCA analysis.	119
S6	Ranking of Δ BIC values to compare the model with a given compound and the model with the fruit effect.	120

Manuscript C: Evolution of trade-offs across environments following experimental evolution of the generalist *Drosophila suzukii* to different fruit media

1	Tests for trade-offs in performance, oviposition stimulation and oviposition preference.	142
S1	Composition for 18 factors of the three fruit media used in the experimental evolution.	155

Manuscript D: Natural populations of the fruit fly *Drosophila suzukii* show local adaptation patterns to alternating host fruits with genetic effects predominating over non-genetic effects

1	Tests at G1 and G3 for local adaptation pattern.	175
2	Variance analyses at generation G1 and G3 for preference traits and performance traits.	177
S1	Key information about the 25 <i>D. suzukii</i> populations collected in the wild.	188

Introduction

Introduction - Table des matières

1.	Adaptation locale	3
1.1	L'environnement génère des pressions de sélections	3
1.2	L'adaptation : un processus évolutif	5
1.3	Adaptation locale, hétérogénéité et temps de réponse . . .	9
1.4	Mise en évidence et étude des processus adaptatifs	14
2.	Invasion biologique	20
2.1	Définitions, processus et hypothèses	20
2.2	Forces évolutives impliquées dans les invasions	21
2.3	Caractères évoluant au cours de l'invasion	25
2.4	Questions d'intérêts	27
3.	Spécialisation écologique	28
3.1	Définition	28
3.2	Spécialisation et adaptation locale	28
3.3	Spécialisation chez les insectes phytophages	34
3.4	Questions d'intérêts	40
4.	<i>Drosophila suzukii</i> comme modèle biologique	40
4.1	Une espèce envahissante généraliste	40
4.2	De l'intérêt à utiliser <i>D. suzukii</i> comme modèle biologique en évolution	44
5.	Questions et objectifs de cette thèse	45

Chaque organisme vivant découle d'une histoire évolutive influencée en partie par des variations temporelles et spatiales de l'environnement. Un des moteurs de cette évolution est l'adaptation, processus qui permet de maintenir l'adéquation entre le phénotype des individus et l'environnement dans lequel ils évoluent. La compréhension des processus qui ont permis cette adéquation entre phénotype et environnement, au-delà de son intérêt fondamental, est cruciale pour la mise en place de prédictions sur l'évolution future de certains organismes.

Depuis quelques décennies, les organismes font face à des changements d'environnements très rapides induits par les activités humaines, créant une forte hétérogénéité et une instabilité des milieux. Ces changements environnementaux sont souvent brusques et intenses relativement aux capacités adaptatives des populations. En réponse, les populations peuvent (i) s'adapter localement via des modifications phénotypiques importantes, (ii) migrer vers d'autres environnements plus propices, ou à défaut (iii) s'éteindre faute d'adéquation entre leur phénotype et le nouvel environnement. Ces modifications d'environnements peuvent également créer des conditions particulières pour l'arrivée de certaines espèces, notamment des espèces envahissantes, et ainsi augmenter l'instabilité des communautés. Dans ce contexte, il est important de mobiliser et d'améliorer nos connaissances en biologie évolutive pour prévoir les conséquences des modifications de l'environnement et proposer des scénarios novateurs pour la gestion des populations. Au cours de ma thèse, je me suis intéressée à approfondir nos connaissances sur les processus adaptatifs influençant l'évolution des organismes au sein et entre populations (*i.e.*, micro-évolution) dans le contexte hautement dynamique et à fort impact agronomique d'une invasion biologique mondiale majeure.

Dans cette introduction, je commencerai par présenter le concept d'adaptation, en m'attachant tout d'abord à définir et préciser les contraintes environnementales. Je décrirai ensuite les processus adaptatifs dans un contexte d'environnement hétérogène et les méthodes couramment utilisées pour les mettre en évidence. Par la suite, je présenterai les invasions biologiques et la spécialisation écologique, pour lesquels les processus adaptatifs sont centraux. J'introduirai ensuite le modèle biologique, *Drosophila suzukii*, sur lequel mes travaux de thèse se sont concentrés. Enfin, je terminerai cette introduction générale par les différentes questions et objectifs abordés dans cette thèse.

1. Adaptation locale

1.1 L'environnement génère des pressions de sélections

1.1.1 L'environnement : définition

L'environnement dans lequel évolue un organisme peut être défini comme l'ensemble des facteurs biotiques et abiotiques auxquels cet organisme est soumis (Thomas et al.,

Encadré 1 : Glossaire

Adaptation (patron) : ensemble de variants phénotypiques qui présente la valeur sélective la plus élevée dans un environnement donné.

Adaptation (processus) : changement des propriétés hérissables des organismes sous l'effet de la sélection.

Caractère : tout attribut observable d'un organisme, pouvant exister sous différentes formes appelées états. L'anglicisme "trait" est également souvent utilisé dans certains domaines (ex. : traits d'histoire de vie).

Environnement : ensemble des facteurs abiotiques (température, humidité, etc.) et biotiques (interactions avec d'autres individus de la même ou d'autres espèces) dont les contraintes s'exercent sur les individus d'une population.

Génotype : au sens large, ensemble du matériel génétique possédé par un individu. Au sens plus strict, ce terme peut également désigner l'ensemble des allèles d'un individu à un locus donné (ou gène au sens mendélien du terme).

Invasion biologique : introduction, établissement et prolifération d'une population dans un nouvel environnement.

Norme de réaction : gamme des phénotypes produits par un même génotype dans des conditions environnementales différentes.

Niche écologique : ensemble des ressources nécessaires à un organisme pour se maintenir, croître et se reproduire.

Phénotype : état d'un caractère observable. Le phénotype résulte de l'interaction entre le génotype de l'individu (information génétique) et son environnement.

Population : ensemble d'individus d'une même espèce coexistant dans un même environnement.

Plasticité phénotypique : gamme de variations des phénotypes que peut prendre un génotype donné sous l'effet de l'environnement.

Spécialisation écologique : processus durant lequel une population s'adapte à une partie restreinte de son environnement.

Valeur sélective : La valeur sélective ("*fitness*" en anglais) d'un génotype (ou d'un phénotype) peut se définir, toujours relativement à un environnement donné, comme le succès reproducteur moyen (*i.e.*, contribution relative à la génération suivante) des individus qui portent ce génotype (ou ce phénotype). La valeur sélective est estimée, suivant les situations, par une ou plusieurs composantes (ex. : survie, fertilité, nombre de descendants à la génération suivante, etc.).

2010). Les pressions biotiques résultent des interactions avec les autres organismes, appartenant à la même espèce ou à des espèces différentes, qui vivent dans le même environnement. Ces interactions peuvent être positives, par exemple dans le cas du mutualisme (Anderson and Johnson, 2008), ou négatives, par exemple lorsqu'elles concernent des parasites (Eizaguirre and Lenz, 2010), des compétiteurs (Johansson, 2008), ou des prédateurs (Abjornsson et al., 2004). Les pressions abiotiques sont liées, quant à elles, aux caractéristiques physico-chimiques de l'environnement (ex. : température, luminosité,

pH, etc.). Il faut souligner que les facteurs abiotiques et les facteurs biotiques peuvent agir simultanément et même interagir (Thomas et al., 2002). Par exemple, la quantité en oxygène disponible (facteur abiotique) pour un organisme peut être modifiée par la présence d'autres organismes voisins (facteur biotique). Réciproquement, la présence d'une espèce compétitrice (facteur biotique) peut être modulée par les conditions micro-environnementales (facteurs abiotiques).

1.1.2 Grain environnemental : de fin à grossier

Les pressions exercées par les facteurs biotiques et abiotiques d'un environnement sont rarement constantes dans l'espace et/ou dans le temps. Cependant, l'échelle de variation des conditions environnementales pertinente à considérer pour caractériser leur impact sur l'évolution des populations est toujours relative aux individus. En effet, l'hétérogénéité de l'environnement peut affecter différemment les populations, selon les caractéristiques phénotypiques des individus qui la composent. La question la plus importante ne va pas être de savoir combien de changements environnementaux ont lieu dans un temps ou dans une distance donnés, mais plutôt à combien de changements environnementaux seront confrontés les individus de cette population au cours de leur vie. Levins (1968) propose la notion de grain environnemental pour décrire la diversité des environnements qu'un individu va rencontrer au cours de sa vie. Le grain de l'environnement doit alors permettre de caractériser son hétérogénéité à des échelles spatiales et temporelles, définies par les caractéristiques du cycle de vie d'un individu (Kassen, 2002; Levins, 1968, Fig. 1). A un grain fin correspondent les caractéristiques environnementales qui varieront au cours de la vie d'un individu. Inversement, les caractéristiques environnementales qui restent constantes durant la vie entière d'un individu, voire pendant plusieurs générations, correspondront à un grain environnemental plus grossier (Fig. 1).

Nous avons vu que les environnements imposent un ensemble de pressions de sélection aux individus qui composent les populations. En accord avec la notion de grain environnemental explicitée ci-dessus, ces pressions pourront être homogènes ou à l'opposé très hétérogènes, dans le temps et dans l'espace. L'adaptation peut permettre aux populations de faire face à ces changements.

1.2 L'adaptation : un processus évolutif

1.2.1 Plusieurs définitions : processus ou patron

L'adaptation est une notion clé en biologie évolutive. Pourtant, le terme d'adaptation peut être utilisé pour définir plusieurs concepts. Il est donc nécessaire d'en clarifier la signification et de préciser en particulier si l'on considère l'adaptation en tant que processus ou en tant que patron.

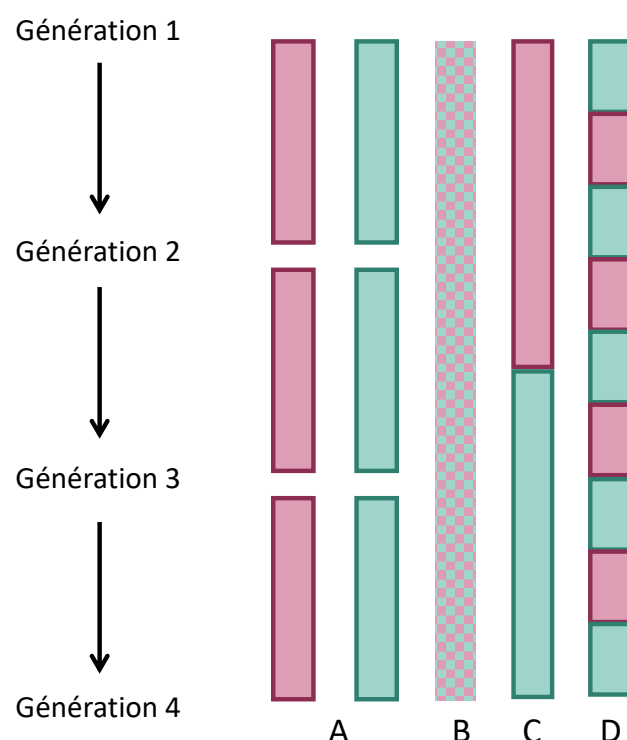


Figure 1 – Grain de l’hétérogénéité. Quatre types de variations environnementales en fonction du temps de génération. La couleur des barres représente les différents environnements rencontrés. Le grain de l’hétérogénéité peut être (A) spatialement grossier, (B) spatialement fin, (C) temporellement grossier et (D) temporellement fin. Illustration issue de Kassen (2002).

L’adaptation peut correspondre au processus durant lequel on observe un changement des phénotypes des organismes sous l’action de la sélection naturelle. Dans ce cas, l’adaptation est à considérer à l’échelle de la population. D’autre part, l’adaptation peut aussi faire référence à l’état lui-même (le fait d’être adapté). Il s’agit alors d’un patron résultant du processus évoqué ci-dessus. L’adaptation est alors définie comme un ensemble de variants phénotypiques ayant la valeur sélective la plus élevée dans un environnement donné. Dans ce cas-là, l’adaptation est un patron observable à l’échelle de l’individu. Un individu adapté à son environnement est alors un individu qui a une valeur sélective plus élevée que les autres dans cet environnement. Ainsi, selon cette dernière définition et contrairement à la première, l’adaptation ne nécessite pas forcément d’évolution génétique de la population.

Au cours de cette thèse, j’utiliserai principalement le terme d’adaptation pour évoquer le processus évolutif, et ce, pour plusieurs raisons. Premièrement, utiliser le terme d’adaptation pour définir un état peut être associé à une vision finaliste et statique, ce qui me semble inapproprié dans un cadre évolutif. Deuxièmement, quand le terme d’adaptation fait référence à un état, il devient ambigu puisqu’il est alors facile de confondre l’état observé comme résultant d’un processus sélectif ou d’un simple effet

de l'environnement sur le phénotype. Troisièmement, considérer l'adaptation comme un processus permet de ne pas exclure certains processus considérés comme adaptatifs. Par exemple, la plasticité phénotypique peut être considérée comme un caractère possédant des bases génétiques. L'adaptation, comme processus, intègre donc tous les processus évolutifs, y compris la plasticité lorsque cette dernière est sous sélection.

Au cours de cette thèse, l'adaptation d'une population à un environnement sera définie comme la modification des fréquences des variants alléliques, qui ont un effet sur le succès reproducteur des individus qui les portent, ce qui entraîne un changement de la distribution des valeurs phénotypiques individuelles sur des caractères associés.

1.2.2 Les forces évolutives sous-tendant l'adaptation

Les mutations sont à l'origine de la variabilité génétique observée dans les populations naturelles (Houle et al., 1996). La sélection naturelle, identifiée par Darwin (1859) comme force évolutive majeure pour expliquer la diversification des populations et des espèces, s'appuie sur cette diversité. Dans un environnement donné, les individus ayant les phénotypes permettant de maximiser la valeur sélective contribueront plus aux générations suivantes que les individus ayant des valeurs sélectives plus faibles. Si le phénotype est déterminé génétiquement et héritable, alors les allèles dits "adaptatifs" (conférant une valeur sélective plus importante dans un environnement donné) augmenteront en fréquence dans la population au cours des générations. Un exemple emblématique illustrant ce phénomène est l'expérience menée dans le laboratoire de Richard Lenski depuis 1988, durant laquelle la bactérie *Escherichia coli* a évolué au sein d'un nouvel environnement pendant 60 000 générations (Fig. 2). La valeur sélective des organismes sur cet environnement a augmenté au cours des générations, attestant d'un processus d'adaptation (Cooper and Lenski, 2000).

L'adaptation d'une population aux contraintes qu'elle rencontre dans un environnement donné est dénommée adaptation locale. Ce processus n'est pas influencé uniquement par la sélection naturelle, mais par toutes les forces évolutives (Lande, 1976). La dérive génétique résulte de l'aléa de transmission des allèles d'une génération à l'autre dans une population de taille finie. Les effets de la dérive génétique sont d'autant plus importants que la population est petite. De manière plus générale, une dérive génétique marquée (ex. : suite à une diminution drastique de la taille de population) peut entraîner une forte diminution de la variabilité génétique et la fixation de variants délétères dans la population (dépression de consanguinité). La migration peut quant à elle favoriser l'adaptation locale en apportant de nouveaux variants (Gandon et al., 1996; Hoeksema and Forde, 2008; Lenormand, 2002; Holt and Gomulkiewicz, 1997), ou au contraire, la ralentir en apportant des variants non adaptés à cet environnement (Lenormand, 2002).

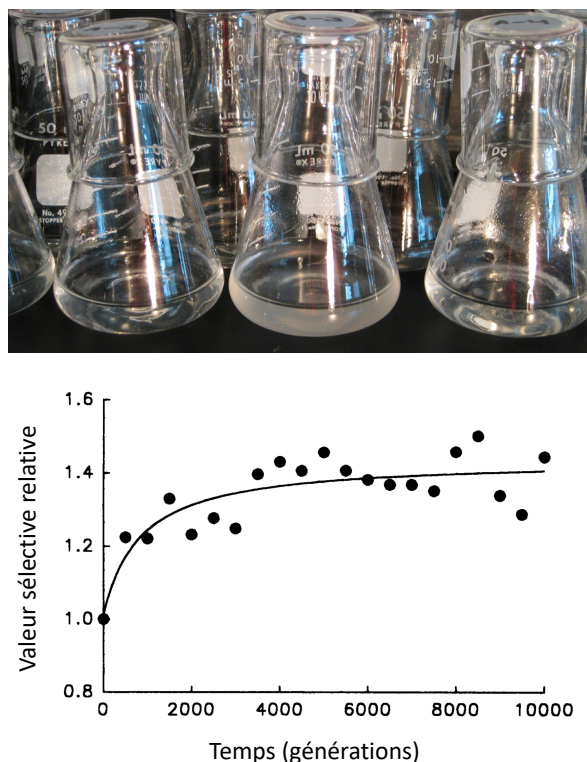


Figure 2 – Photos des populations d'*Escherichia coli* de l'évolution expérimentale à long terme (LTEE) de l'expérience menée dans le laboratoire de Richard Lenski. Copyright : Brian Baer and Neerja Hajela. Durant cette expérience, la valeur sélective relative aux souches ancestrales a augmenté au cours des générations, démontrant l'occurrence d'un processus d'adaptation. Illustration issue de Travisano and Lenski (1996).

1.2.3 Adaptation locale en condition naturelle (environnement hétérogène)

Dans la nature, les pressions de sélection peuvent varier dans le temps et dans l'espace. Lorsque l'environnement est hétérogène, le processus d'adaptation locale entraîne l'évolution des organismes. Un des exemples les plus connus d'adaptation locale dans un environnement hétérogène est celui de la phalène du bouleau *Biston betularia*. Ce papillon de nuit adopte le jour une stratégie de mimétisme pour se confondre avec son environnement et échapper à la prédation par les oiseaux. Le phénotype mélanique (*i.e.*, couleur sombre des ailes et du corps, Fig. 3), dont le déterminisme génétique n'a été que récemment caractérisé (Van't Hof et al., 2016), était à l'origine très rare dans les populations naturelles (Haldane and Ford, 1956). Cependant, l'industrialisation a entraîné une augmentation de la pollution atmosphérique, tendant à assombrir le tronc des arbres dans les régions industrialisées. Les conditions environnementales sont devenues favorables au phénotype mélanique qui permet un camouflage plus efficace pour contrer la pression de prédation dans les aires industrielles (Bishop and Cook, 1980). De ce fait, le phénotype mélanique a fortement augmenté en fréquence en quelques dizaines d'années dans les populations situées dans les zones très industrialisées du nord de l'Angleterre. A l'inverse, le phénotype clair est resté le plus fréquent dans les zones non



Figure 3 – Phénotypes mélanique et clair de *Biston betularia* sur environnement non-industrialisé (gauche) et industrialisé (droite). Copyright : Alex Hyde.

industrielles. Il s'est ainsi établi une hétérogénéité spatiale (régions industrialisées et non industrialisées) et temporelle (augmentation au cours du temps liée à l'assombrissement des troncs) des pressions de sélection exercées sur les patrons de coloration de ce papillon. Il est intéressant de noter que, suite au relâchement récent de la pression de sélection lié à une baisse de la pollution atmosphérique (hétérogénéité temporelle), un phénotype intermédiaire est en train de remplacer le phénotype mélanique (Cook and Grant, 2000).

1.3 Adaptation locale, hétérogénéité et temps de réponse

Nous avons vu précédemment que l'environnement pouvait être hétérogène. Nous avons vu aussi que la sélection naturelle est un mécanisme qui permet aux populations de s'adapter aux conditions environnementales et donc de se maintenir. Cependant, ce type de réponse a souvent été négligé dans le cas d'un environnement hétérogène, car il ne peut se mettre en place qu'au cours de plusieurs générations. Dans cette section, nous allons voir quelle sont les situations écologiques et évolutives optimales pour que ce mécanisme se mette en place.

1.3.1 Adaptation locale : un processus observable

Les changements phénotypiques en réponse à la sélection naturelle ont longtemps été considérés comme un processus lent, nécessitant plusieurs centaines de générations. Pourtant, de nombreux exemples dans différents groupes taxonomiques ont appuyé

l'idée que l'évolution pouvait être rapide (Hendry and Kinnison, 1999; ex. : Hargeby et al. (2004) chez les crustacés; Gilchrist et al. (2004) chez les insectes; Grant and Grant (1995) chez les oiseaux; Reznick (1997) chez les poissons). Par exemple, le lézard des ruines, *Podarhis sicula*, a évolué morphologiquement, physiologiquement et comportementalement en seulement une trentaine d'années (36 ans et environ 30 générations) suite à l'introduction dans un nouvel environnement (Herrel et al., 2008). Il est à présent très largement admis que l'évolution peut être rapide (Reznick and Ghalambor, 2001; Thompson, 1998b).

1.3.2 Population et environnement : facteurs influençant le temps de réponse

Lorsque l'environnement est hétérogène, l'adéquation entre phénotype et environnement peut être maintenue à condition que l'adaptation de la population soit plus rapide que les changements d'environnements. Nous allons voir maintenant quels sont les facteurs qui conditionnent la vitesse de changements phénotypiques. La réponse évolutive va dépendre des caractéristiques de la population, de l'environnement mais également de l'interaction entre les deux.

1.3.2.1 Caractéristiques de la population :

En agronomie, la vitesse de changements phénotypiques en réponse à des pressions de sélection a suscité un vif intérêt. L'équation du sélectionneur ("Breeder's equation", Bossert, 1963; Lush, 1945, Eq. 1) a ainsi été obtenue à partir d'un modèle de génétique quantitative. Selon cette équation, la réponse à une génération de sélection, et plus précisément la différence intergénérationnelle de moyenne phénotypique R , dépend en partie de l'héritabilité du caractère h^2 et du différentiel de sélection S .

$$R = h^2 S \quad (1)$$

L'héritabilité est une mesure de la ressemblance entre apparentés pour un caractère quantitatif. Elle mesure la part de variance phénotypique transmissible d'une génération à la suivante. Le processus d'adaptation repose donc sur la variance phénotypique transmissible. Selon le théorème fondamental de la sélection naturelle (Fisher, 1930), la valeur sélective moyenne d'une population augmente sous l'effet de la sélection naturelle, de manière proportionnelle à la variance génétique additive de la valeur sélective.

La variation génétique du caractère en question, disponible dans la population pour la sélection, peut avoir plusieurs origines (Bay et al., 2017). Elle peut provenir de la variation génétique préexistante dans la population naturelle ("*standing genetic variation*" en anglais), de mutations *de novo* ou bien par flux de gènes issus d'autres populations (via la migration). Les contributions respectives de chacune de ces trois sources de variations ne sont pas identiques en termes de vitesse de réponse. La variation génétique préexistante est fortement influencée par la taille des populations. En effet, plus la taille de population

est grande, plus la variation génétique d'un caractère est importante (Falconer, 1960). De plus, cette variation génétique peut être érodée par la dérive génétique (ex. : quand les tailles de populations sont faibles) ou la sélection (ex. : quand un allèle adaptatif est fixé et que les autres allèles sont éliminés). L'apparition de mutation *de novo* est un phénomène peu fréquent. Sur un pas de temps court, la mutation *de novo* contribue donc peu à cette variation (Dlugosch et al., 2015). Elle reste toutefois essentielle puisqu'elle est à l'origine même de la variation. La contribution de la migration en revanche dépend de son intensité (ex. : la migration de quelques individus ne pourra amener que peu de diversité à la population). Par ailleurs, l'impact de la migration peut être positif si les migrants sont déjà adaptés aux conditions locales, ou négatif dans le cas contraire (Lenormand, 2002).

La sélection cible rarement un seul caractère. Les travaux de Lande and Arnold (1983) offrent une généralisation multi-caractères à l'équation du sélectionneur :

$$\Delta z = G\beta \quad (2)$$

Pour une population donnée, le vecteur z représente les moyennes phénotypiques de chaque caractère observé et la matrice G est la matrice des variances – covariances génétiques additives entre caractères. Le vecteur β des gradients de sélection mesure l'intensité de la sélection sur chaque caractère. Cette équation permet de relier l'évolution phénotypique (observée) à la pression de sélection exercée sur chaque composante de la valeur sélective (capturée par β).

1.3.2.2 Caractéristiques environnementales

Plus les pressions de sélections sont différentes entre l'environnement ancestral et le nouvel environnement, plus l'intensité de la sélection sera importante. L'intensité des pressions de sélections induite par l'environnement aura une influence sur la vitesse de réponse du processus adaptatif. Plus les pressions de sélection sont importantes (β dans l'équation 2), plus les changements phénotypiques peuvent être importants (Δz dans l'équation 2).

L'intensité de la sélection va donc influencer les changements évolutifs, de manière conjointe avec la durée durant laquelle ces pressions de sélection sont effectives. Le nombre de générations pendant lesquelles une même pression de sélection s'exerce est aussi un paramètre clé.

1.3.2.3 Interaction entre les caractéristiques de la population et de l'environnement

La vitesse des changements phénotypiques sera importante si les pressions de sélections sont très différentes entre l'environnement d'origine et le nouvel environnement, et si les caractéristiques génétiques de la population permettent d'y répondre. Cependant, il est important de rappeler que les pressions de sélection peuvent varier dans le temps et

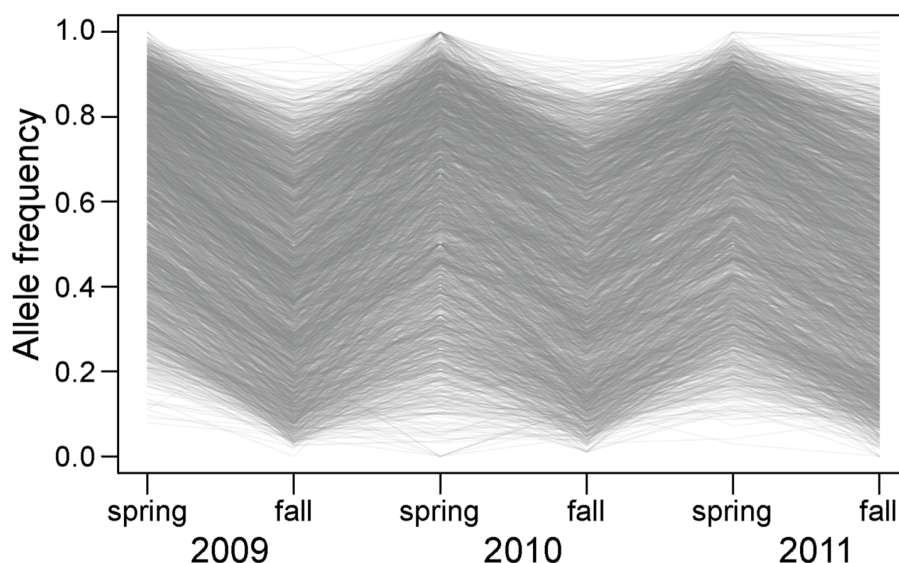


Figure 4 – Changement de fréquences alléliques au cours du temps observé sur 1,750 SNPs dans 14 populations de *D. melanogaster*. Illustration issue de Bergland et al. (2014).

dans l'espace. Plus le grain de l'hétérogénéité sera grossier, plus le nombre de générations subissant les mêmes pressions de sélection sera important, plus le processus d'adaptation sera effectif et donc mesurable.

Par exemple, des processus d'adaptation locale au climat ont été mis en évidence dans plusieurs populations de *Drosophila melanogaster* sur une large échelle spatiale, c'est-à-dire quand la dispersion est inférieure à l'échelle de l'hétérogénéité spatiale considérée. Cette espèce, présente partout dans le monde, est originaire du continent africain (Sprengelmeyer et al., 2018). En comparant des populations vivant en zone tropicale à d'autres populations vivant en zone tempérée, plusieurs changements génétiques liés aux variations climatiques ont été mis en évidence (Hoffmann and Weeks, 2006; González et al., 2010).

Chez cette même espèce, des signatures de sélections ont été détectées à une échelle temporelle beaucoup plus fine, c'est-à-dire quand le temps de générations est plus proche tout en restant inférieur aux fluctuations temporelles considérées. Des oscillations saisonnières rapides et stables de fréquences alléliques de plusieurs centaines de gènes ont aussi été récemment détectées dans 14 populations de *D. melanogaster*, attestant d'une réponse aux pressions de sélection que peut subir un organisme à l'échelle de quelques générations (Bergland et al., 2014, Fig. 4).

1.3.3 L'association phénotype-environnement au-delà de l'adaptation génétique

L'adaptation est un processus dépendant de la sélection naturelle qui agit au cours d'au moins une génération pour maintenir l'adéquation entre phénotype et environnement. Lorsque le grain de l'hétérogénéité est très fin, les individus vont subir

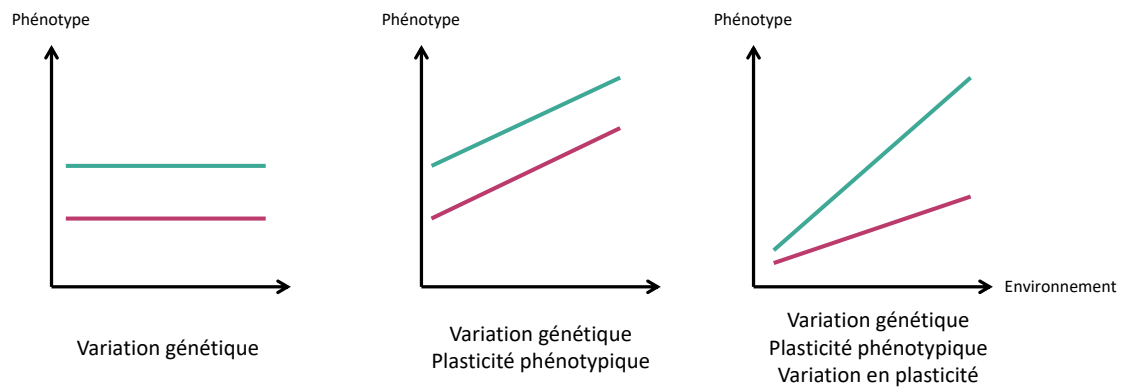


Figure 5 – Effet de l’environnement sur le phénotype. Deux normes de réactions (pour une définition voir l’encadré 1) sont représentées (droite verte et violette). Dans le panel de gauche, le phénotype n’est pas affecté par la plasticité. La différence phénotypique est due uniquement à une différence génétique. Dans le panel du milieu, de la plasticité phénotypique est exprimée dans les deux génotypes. Les pentes étant identiques, il n’y a pas de variation de la plasticité phénotypique. Dans le panel de droite, la plasticité phénotypique est différente pour les deux génotypes. Il y a de la variation génétique de plasticité. Illustration issue de Thomas et al. (2010).

plusieurs changements environnementaux au cours de leur vie. L’adaptation n’est donc pas un processus qui permet aux individus de se maintenir face à de tels changements. Dans cette situation, l’évolution de l’adéquation entre le phénotype et l’environnement peut s’opérer sans adaptation, par deux autres processus : la migration et la plasticité phénotypique.

La migration des individus d’une population depuis leur environnement d’origine vers un environnement favorable (*i.e.*, correspondant à leur niche écologique), peut être une stratégie qui permet cette adéquation (Hansen et al., 2012). Cependant, cette stratégie ne peut être efficace que s’il existe des environnements accessibles dans lesquels la population peut se maintenir (Thomas et al., 2004). Ainsi, face aux changements climatiques et selon une méta-analyse réalisée par Chen et al. (2011), face aux changements climatiques, le taux de déplacement moyen des espèces est de 17.6 km/décennie avec une montée en altitude de 11 m/décennie.

La plasticité phénotypique est définie comme la capacité d’un génotype à exprimer plusieurs phénotypes dans des environnements différents (Bradshaw, 1965; Stearns, 1989). Elle permet donc à des individus de survivre dans un environnement hétérogène à grain fin (Kassen, 2002). Chez la daphnie *Daphnia kladophora* par exemple, la forme et la taille du casque (*i.e.*, ex-croissance de leur cuticule) varient en fonction des conditions environnementales, et plus précisément de la quantité de nourriture disponible et de la pression de prédation lors du développement (Woltereck, 1909).

Si la plasticité phénotypique est avantageuse dans certains cas, elle peut également

être coûteuse (Pigliucci, 2001; Dewitt et al., 1998). Ces coûts sont liés (*i*) au maintien des systèmes sensitifs pour la perception des indices environnementaux; (*ii*) à la production même des phénotypes différents (surplus énergétique nécessaire pour produire un phénotype parmi d'autres possibles comparé à la production d'un seul phénotype quelque soit l'environnement); ou (*iii*) à l'acquisition de l'information lorsqu'elle demande une recherche active coûteuse en temps et en énergie (Burns et al., 2011; Dewitt et al., 1998). La plasticité phénotypique nécessite également d'obtenir des informations fiables pour évaluer et prédire les conditions environnementales (Bonamour et al., 2019). Ainsi, l'imprévisibilité de la variabilité environnementale (notamment de type temporelle) défavorise la plasticité phénotypique (Tufto, 2000; Jong, 1999; Moran, 1992; Getty, 1996; Moran, 1992; Lively, 1986).

La plasticité phénotypique est parfois considérée comme adaptative car elle permet de produire des phénotypes optimaux dans un environnement donné (Ghalambor et al., 2007). Sachant que nous considérons l'adaptation comme un processus associé à un changement de fréquences génotypiques, nous ne considérons pas ici un phénotype produit par plasticité comme de l'adaptation en soi. Cependant, la sélection naturelle peut favoriser l'évolution de la plasticité phénotypique en tant que caractère, si la plasticité est déterminée génétiquement (DeWitt and Scheiner, 2004; Schlichting, 1986; Scheiner, 1993). Comme pour tout caractère, l'évolution de la plasticité phénotypique n'est alors possible que s'il existe une variabilité génétique de la réponse plastique (Fig. 5).

Migration, plasticité phénotypique et adaptation ne sont pas des stratégies antagonistes. Au contraire, elles peuvent agir conjointement pour le maintien d'une population dans son environnement (Lande, 2009). Pour illustrer cela, on peut s'intéresser à l'introduction d'organismes dans un nouvel environnement. Ce dernier peut correspondre à un changement brutal donc à de fortes pressions de sélections. Dans un premier temps, la plasticité phénotypique peut permettre la survie des organismes face à ce type de changement (Lande, 2015). L'adaptation, moins immédiate que la plasticité mais potentiellement moins coûteuse, peut permettre la pérennisation de la population dans cet environnement (Kelly, 2019; Schmidt et al., 2019, Fig. 6).

1.4 Mise en évidence et étude des processus adaptatifs

Pour mieux comprendre les processus adaptatifs, et ainsi pouvoir espérer comprendre et potentiellement prédire l'évolution des populations dans différents environnements, plusieurs points sont nécessaires. Il faut (1) cibler les phénotypes sous sélection et (2) savoir s'ils ont une base génétique. Si ces conditions sont remplies, il sera alors possible de tester directement le potentiel adaptatif des populations face aux changements environnementaux en regardant la réponse phénotypique des organismes à la sélection.

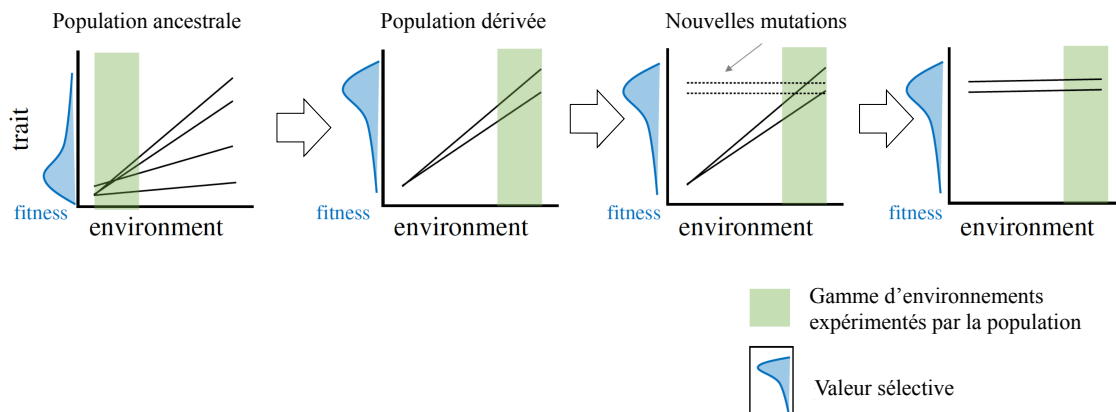


Figure 6 – Changements évolutifs et plasticité phénotypique. Les graphiques montrent une variation hypothétique des normes de réaction avant et après un changement dans l'environnement, suivie d'une sélection naturelle. Les cases (en vert) indiquent la gamme d'environnements rencontrés par une population, tandis que les lignes le long de l'axe des ordonnées (en bleu) indiquent la relation entre les valeurs des traits et la valeur sélective. Dans un premier temps, la plasticité augmente avec les génotypes les plus plastiques qui se rapprochent des phénotypes optimaux. Dans un second temps, si le nouvel environnement est stable, alors la plasticité diminue (on parle alors d'assimilation génétique). Illustration issue de Kelly (2019).

Pour cela deux approches complémentaires sont possibles. Pour étudier les processus adaptatifs, il est possible de caractériser l'évolution des populations lorsque les pressions de sélection sont contrôlées expérimentalement. Dans ce cas, l'effet de la sélection et la réponse des populations sont testés directement. Cependant, la réponse des populations à des conditions expérimentales reste parfois éloignée des conditions rencontrées dans la nature où les différentes forces évolutives ne sont pas contrôlées. La deuxième approche consiste à étudier les populations naturelles. Cela permet notamment d'identifier les différents phénotypes impliqués dans la réponse à l'hétérogénéité de l'environnement, bien qu'il soit alors difficile de dissocier l'effet des différentes forces évolutives. Je développerai dans les sections suivantes les méthodes qu'il est possible de mettre en œuvre dans chacun de ces deux cas.

1.4.1 En populations expérimentales

L'évolution expérimentale permet de suivre les processus évolutifs en temps réel (Reboud and Sicard, 2016; Wichman et al., 2000). Cette méthode permet de suivre la réponse de populations expérimentales, à des régimes de sélection imposés par les expérimentateurs (Garland and Rose, 2009; Magalhães and Matos, 2012; Kawecki et al., 2012). Cette approche empirique présente l'avantage de permettre d'établir une causalité entre les forces de sélection et les patrons d'adaptation en fournissant des observations des changements phénotypiques qui interviennent au cours de l'adaptation (Burke and Rose, 2009). Des changements de valeur sélective peuvent être mesurés

en comparant la valeur sélective des individus des populations ayant évolué dans de nouvelles conditions avec celle des individus de populations témoins, l'ensemble des populations expérimentales, tests ou témoins étant généralement issu d'une même population d'origine (Kawecki et al., 2012). Ce type d'approche permet de tester la répétabilité des processus évolutifs et donc de dissocier les réponses liées respectivement à la sélection et la dérive (Kawecki et al., 2012; Garland and Rose, 2009).

L'évolution expérimentale s'est souvent concentrée sur des modèles microbiens asexués pour lesquels l'adaptation et la dynamique des populations sont majoritairement déterminées par la sélection successive de mutations adaptatives. Les expériences d'évolution avec les espèces à reproduction sexuée ont été moins utilisées en raison d'un temps de génération plus long, de dispositifs expérimentaux plus lourds même pour des tailles de population modestes, et, à quelques exceptions près, l'impossibilité de comparer les populations ancestrales et évoluées. Des expériences de ce type ont néanmoins déjà été réalisées sur plusieurs modèles biologiques à reproduction sexuée (arthropodes, ex. : Magalhães et al., 2009 sur *Tetranychus urticae* ou Mery and Kawecki, 2002 sur *Drosophila melanogaster*; nématode, ex. : Teotónio et al., 2017 sur *Caenorhabditis elegans*, plantes, ex. : Dudley, 2007 sur le maïs de l'Illinois; oiseaux, ex. : Dunnington and Siegel, 1996 sur le poulet; mammifères, ex. : Bünger and Hill, 1999 sur la souris). Certaines expériences d'évolution attestent des processus d'adaptation à différentes pressions de sélection d'origine abiotique (température, ex. : Bennett and Lenski, 2007; niveau de luminosité, ex. : Reboud and Bell, 1997; sources nutritives, ex. : Cooper and Lenski, 2000; gradient de doses antibiotiques, ex. : Harmand et al., 2018 ou pH, ex. : Gallet et al., 2014) ou biotiques (adaptation à la plante hôte, ex. : Messina et al., 2009; à des vecteurs hôtes, ex. : Legros and Koella, 2010).

Cependant, il s'avère souvent délicat de transposer les conclusions issues de ces travaux aux patrons observés en milieu naturel (Fellous et al., 2014). Les pressions de sélection en conditions expérimentales sont en effet souvent très divergentes de celles présentes *in natura*, ces dernières étant plus complexes et multifactorielles.

1.4.2 En populations naturelles

- ***Jardin commun et transplantations réciproques***

Lorsque l'on mesure les phénotypes dans les populations naturelles, la plasticité phénotypique peut être confondue avec la différenciation génétique. Du fait de cet effet confondant, il est généralement impossible d'étudier la part génétique de l'adaptation d'un caractère en le mesurant directement dans des populations différentes, *in natura* (mais voir Nosil and Crespi, 2006, et Barrett et al., 2019). Une approche expérimentale permet de contourner ce problème en plaçant des individus issus de populations différentes dans le même environnement appelé jardin commun. Si la plasticité phénotypique

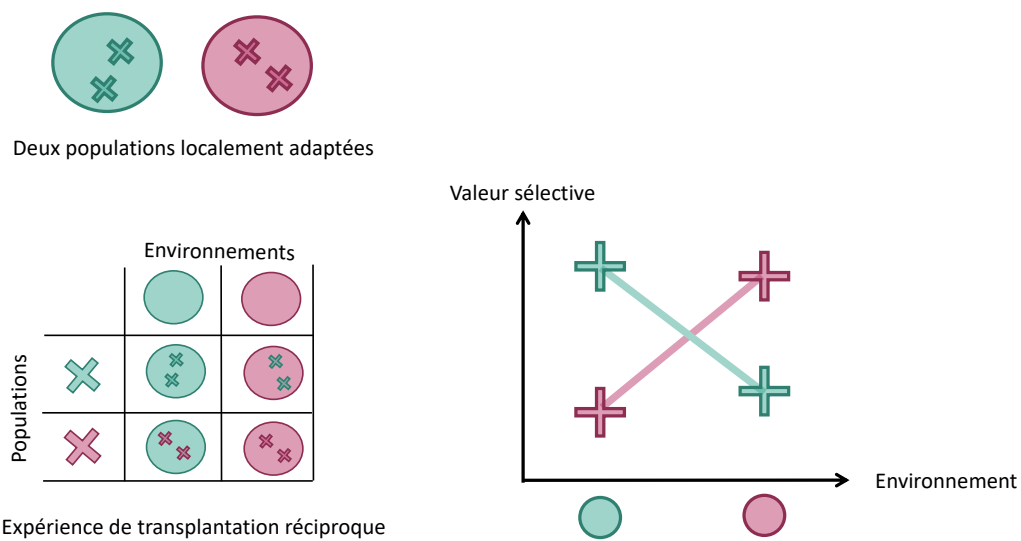


Figure 7 – Patron d’adaptation locale mis en évidence par transplantation réciproque. Les génotypes locaux de chaque population ont en moyenne une meilleure valeur sélective dans leur environnement local que les génotypes provenant d’autres environnements.

impacte tous les individus de la même manière, les différences sur le phénotype étudié observées entre populations seront nécessairement d’origine génétique. Cependant, le niveau de plasticité peut lui-même évoluer au cours d’un processus d’adaptation génétique à un nouvel environnement (Lande, 2009; Price et al., 2003; pour un exemple voir Gallet et al., 2014).

La meilleure méthode expérimentale, du type jardin commun pour détecter l’adaptation d’une population dans son environnement est la méthode de transplantation réciproque (Kawecki and Ebert, 2004; Turesson, 1922). Cette méthode consiste à mesurer la valeur sélective des individus locaux et provenant d’autres populations, dans plusieurs environnements (Fig. 7). La valeur sélective de plusieurs génotypes est alors comparée entre leur propre environnement et dans les autres environnements. Ce type d’expériences a largement été utilisé (Hereford, 2009; Kawecki and Ebert, 2004). Par exemple, l’adaptation locale du virus *Tobacco etch potyvirus* a été détectée en comparant la virulence et l’infectivité sur quatre plantes hôtes, de lignées ayant évolué expérimentalement sur ces quatre plantes hôtes (Bedhomme et al., 2012). Le principal intérêt des expériences de transplantation réciproque est qu’elles permettent d’étudier la différenciation génétique entre populations pour une série de caractères potentiellement adaptatifs.

La mise en place de ce type d’expériences est cependant souvent coûteuse en temps et en logistique. Le nombre de caractères étudiés dans ce type d’expérience étant souvent restreint, il est nécessaire de connaître en amont des caractères candidats fiables. Or, l’environnement représente un ensemble complexe de pressions de sélection,

qui souvent agissent sur un nombre potentiellement élevé de caractères. En étudiant le génome dans sa globalité, les méthodes indirectes (*i.e.*, du génotype au phénotype) utilisant la génomique des populations peuvent permettre d'identifier des caractères pertinents et de caractériser leur architecture génétique (*i.e.*, nombre de régions du génome impliquées ainsi que leurs positions et leurs effets).

- ***Approches génomiques***

Les nouvelles techniques de séquençage à haut-débit permettent désormais d'identifier les régions du génome potentiellement associées à l'adaptation des populations à leur environnement, y compris chez des espèces non-modèles (Hoban et al., 2016). De nouvelles méthodes d'analyse du polymorphisme génomique appelées scans génomiques, permettent de caractériser le lien, à l'échelle populationnelle, entre la variation génétique et des variables phénotypiques ou environnementales. Les scans génomiques sont utilisés pour détecter des régions génomiques fortement différenciées entre populations (relativement aux attendus sous l'hypothèse de neutralité), des associations génotype-environnement, ou des corrélations génotype-phénotype. Ces méthodes sont notamment utiles pour identifier des marqueurs génétiques impliqués dans la réponse adaptative des organismes à des facteurs environnementaux. Plus précisément, elles peuvent permettre de caractériser l'architecture génétique de caractères phénotypiques pouvant être liés à la valeur sélective des individus qui les expriment. Les scans génomiques, étudiant le polymorphisme génétique des populations, peuvent être classés en deux grands types d'approches.

Le premier type d'approche consiste à identifier les signatures de sélection sans *a priori* sur le caractère ou la variable impliquée dans la réponse à la pression de sélection. Ces approches sont indirectes au sens où elles n'ont pas d'*a priori* sur la nature et la cible de la sélection. Sous réserve que l'on dispose d'information génomique sur l'espèce étudiée, l'annotation fonctionnelle des régions identifiées (*i.e.*, fonctions des gènes qui y sont localisés) peut ainsi permettre d'identifier des caractères candidats ayant été soumis à la sélection naturelle lors d'un processus adaptatif. Cette approche est dite inversée puisqu'elle va du gène au phénotype (Li et al., 2008). Le deuxième type d'approche correspond à une méthode plus directe permettant d'identifier les régions du génome dont la variabilité inter-populationnelle co-varie avec les caractéristiques des populations (phénotypes, covariables environnementales) par des méthodes d'analyse d'association. En effet, la différenciation génétique des populations peut ainsi être associée (*i*) à des variables écologiques (on parle alors généralement d'approches GEA - *Genome-Environment Association* – pour mettre en évidence ce lien) ou (*ii*) à la variation de caractères (on parle alors d'analyse d'association ou GWAS).

Globalement, l'objectif de ces approches de génomiques des populations, applicables

aux populations expérimentales (approches dites "*Evolve and Resequence*", ex. : Turner et al., 2011) ou naturelles, est de préciser l'architecture génétique des différents caractères d'intérêt. Elles peuvent également permettre, dans une certaine mesure, d'évaluer si les résultats obtenus dans les expériences de sélection expérimentales sont transposables *in natura*.

1.4.3 Limites et complémentarité des approches sur populations expérimentales et populations naturelles

Si les méthodes expérimentales sont souvent utilisées pour tester les processus adaptatifs en temps réel (évolution expérimentale) ou *a posteriori* (jardin commun), les limites de ces approches reposent sur le nombre de caractères étudiés. En effet, alors qu'elles permettent de faire un lien entre les changements phénotypiques liés à des changements environnementaux, il n'est généralement possible d'étudier que peu de caractères et peu de populations du fait de la lourdeur de ces expériences.

L'avantage des méthodes génomiques appliquées sur les populations naturelles, est qu'elles permettent d'étudier le génome dans sa globalité et ainsi de détecter des gènes, voire des voies physiologiques et des phénotypes impliqués dans des processus adaptatifs. Toutefois, ces études génomiques ont également leurs limites. La première est liée à la nécessité de disposer de ressources génomiques importantes sur les espèces d'intérêt, tandis que la deuxième est leur aspect corrélatif. Les résultats ainsi obtenus peuvent parfois être potentiellement trompeurs lorsque le caractère considéré est trop "large" (ex. : certaines covariables environnementales) ou que les caractères montrent une forte corrélation génétique entre eux (ex. : chez les insectes la taille, le poids et la fécondité). Une approche expérimentale est alors souvent nécessaire afin de confirmer les résultats corrélatifs obtenus par les méthodes génomiques.

Que ce soit dans les populations expérimentales ou naturelles, les outils expérimentaux disponibles sont complémentaires pour étudier les processus adaptatifs et le lien entre phénotype et environnement. C'est pour cette raison que je les ai utilisés conjointement au cours de cette thèse.

1.4.4 Conclusion

Comprendre l'évolution de l'adéquation entre le phénotype des organismes et leur environnement est pérenne, permet de mieux appréhender de nombreux phénomènes biologiques comme les invasions biologiques et la spécialisation écologique. Ces phénomènes biologiques ont suscité un vif intérêt de par leur aspect ubiquiste et multifactoriel (Poisot et al., 2011; Sakai et al., 2001). Ils permettent d'observer l'évolution des organismes sur de courtes échelles de temps, et représentent ainsi des situations pertinentes d'évolution contemporaine. Invasion biologique et spécialisation écologique peuvent être vues comme des expériences *in natura* dont le processus adaptatif est observable

(Reznick and Ghalambor, 2001; Colautti and Lau, 2015). Il s'agit donc de situations écologiques et évolutives idéales pour comprendre les processus évolutifs régissant l'adéquation des organismes à leur environnement. Pour la suite de cette introduction, je me concentrerai sur la description de deux phénomènes biologiques, pour lesquels les processus adaptatifs sont centraux : les invasions biologiques et la spécialisation écologique.

2. Invasion biologique

2.1 Définitions, processus et hypothèses

2.1.1 Définitions

Une espèce envahissante est souvent définie comme une espèce exotique qui s'implante dans un écosystème ou un habitat naturel ou semi-naturel, induisant des changements et menaçant la diversité biologique endémique (Shine and Williams, 2000; pour d'autres définitions voir Valéry et al., 2008). Ici, nous nous intéresserons à la notion d'invasion biologique indépendamment des nuisances causées mais en faisant exclusivement référence aux critères d'expansion géographique et démographique (Richardson et al., 2000; Colautti et al., 2004). Dans ce cas, l'invasion biologique peut être définie comme l'introduction, l'établissement et la prolifération d'une population dans un nouvel environnement (Elton, 1958; Mack et al., 2000).

2.1.2 Quatre phases majeures

Une invasion biologique est un processus qui peut être décliné en quatre phases majeures successives : l'émigration, l'introduction, l'établissement et l'expansion (Sakai et al., 2001; Williamson and Fitter, 1996; Kolar and Lodge, 2001; Duncan et al., 2003). Le passage d'une étape à une autre ne peut se faire qu'avec le franchissement de différentes barrières géographiques, écologiques et démographiques (Colautti et al., 2004; Sakai et al., 2001; Richardson et al., 2000, Fig. 8). Les barrières écologiques correspondent aux nouvelles pressions abiotiques et biotiques auxquelles l'organisme doit faire face. Les barrières démographiques sont induites par le nombre habituellement faible d'individus présents dans les foyers d'introduction mais également sur les fronts d'expansion (Lande, 1993), et sont susceptibles d'engendrer des effets Allee (*i.e.*, une corrélation positive entre le taux de croissance et le nombre d'individus d'une population, Taylor and Hastings, 2005; Allee, 1949) ainsi que des problèmes de dépression de consanguinité (Szűcs et al., 2019), dus à une probabilité accrue de fixation d'allèles délétères (Lynch et al., 1995).

2.1.3 Hypothèses expliquant le succès d'une invasion

Différentes hypothèses, mêlant processus écologiques et évolutifs, ont été proposées pour expliquer le succès des invasions. Une liste, non exhaustive et condensée, est

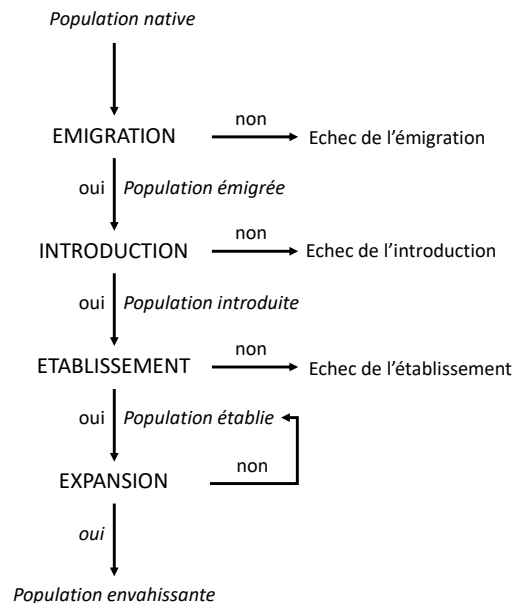


Figure 8 – Etapes d'un processus d'invasion biologique adapté selon Dunan et al. 2003. Le passage d'une étape à une autre ne peut se faire qu'avec le franchissement de différentes barrières géographiques, écologiques et démographiques (Sakai et al., 2001; Richardson et al., 2000; Colautti et al., 2004).

présentée dans l'encadré 2. Le succès d'invasion peut également dépendre de la capacité des organismes à s'adapter à leur nouvel environnement (Gilchrist and Lee, 2007). En effet, le potentiel évolutif est souvent perçu comme déterminant dans le succès des invasions (Estoup et al., 2016; Facon et al., 2008). Par la suite, nous nous intéresserons aux invasions biologiques principalement dans le cadre des mécanismes liés à l'adaptation des organismes à leur nouvel environnement.

2.2 Forces évolutives impliquées dans les invasions

Si l'adaptation des organismes semble jouer un rôle clé pour expliquer le succès d'une invasion, la sélection n'est pas la seule force évolutive influençant l'évolution des organismes (Welles and Dlugosch, 2019). Plusieurs forces évolutives jouent un rôle prépondérant dans l'adaptation des organismes à leurs nouvelles conditions environnementales (aire envahie). Dans son environnement natif, la population a potentiellement atteint son équilibre évolutif (*i.e.*, une population va évoluer jusqu'à atteindre un point d'équilibre et n'évoluera par la suite que si de nouvelles mutations apparaissent et sont sélectionnées ou si l'environnement change), ce qui n'est plus le cas lorsqu'elle est introduite dans un nouvel environnement.

Encadré 2 : Liste non exhaustive des hypothèses proposées dans la littérature pour expliquer le succès d'une invasion

"Empty niche hypothesis" : Un des facteurs expliquant le succès d'une invasion est l'introduction d'une population dans une niche écologique vide (Elton, 1958; Levine and D'Antonio, 1999).

"Niche width hypothesis" : Selon cette hypothèse, la largeur de la niche écologique est en corrélation positive avec le succès de l'invasion (Vazquez, 2006). La probabilité de succès d'une invasion par une espèce à niche large ("généraliste") est supérieure à celle d'une espèce à niche plus étroite ("spécialiste"), car elle est capable de prospérer dans une large gamme de ressources ou conditions environnementales.

"Enemy release hypothesis" : L'absence d'ennemis, prédateurs, compétiteurs ou pathogènes naturels dans l'aire envahie serait une raison du succès de certaines invasions biologiques (Keane and Crawley, 2002).

"Evolution of Increase Competitive Ability hypothesis" (EICA) : Certaines pressions de sélections (ex. : prédation ou compétition) sont relâchées lors de l'introduction d'une population dans un nouvel environnement. Les organismes peuvent alors re-allouer leurs ressources à d'autres fonctions (Blossey and Notzold, 1995). Par exemple, les ressources initialement liées à la défense immunitaire peuvent être utilisées dans la reproduction ou le développement (Parker et al., 2013).

"Preadaptation hypothesis" : Le succès d'une invasion peut être dû à l'absence de différences environnementales entre l'aire native et l'aire envahie (Facon et al., 2006). Le développement dans ce nouvel environnement ne serait pas alors un "défi adaptatif" pour les populations introduites puisque le nouvel environnement est le même que dans l'aire native (Estoup et al., 2016).

"Anthropogenically Induced Adaptation to Invade hypothesis" (AIAI) : L'homogénéisation des environnements due aux activités humaines favoriserait le succès des invasions (Hufbauer et al., 2012). En effet, les populations qui seraient adaptées à un environnement anthropisé, comme les exploitations agricoles, auraient alors une capacité accrue à coloniser de nouvelles zones anthropisées situées loin de leur aire géographique d'origine.

"Novel weapons hypothesis" : Les populations introduites dans un nouvel environnement peuvent avoir un avantage compétitif dans cet environnement par rapport aux espèces indigènes déjà présentes. Les populations envahissantes peuvent avoir des caractéristiques qui affectent négativement la communauté, ce qui facilite le succès de l'invasion (Callaway and Ridenour, 2004; Callaway and Aschehoug, 2000). Ces caractères peuvent être par exemple, la production de composés biochimiques ayant des effets allélopathiques ou des substances toxiques.

Plasticité phénotypique : Baker and Stebbins (1965) proposent qu'une plus forte plasticité phénotypique contribue au succès de l'invasion. Les populations envahissantes seraient en moyenne plus plastiques que les populations natives. Une récente revue a notamment mis en évidence le rôle de la plasticité dans le succès de colonisation d'un nouvel environnement (Lande, 2015).

2.2.1 La sélection naturelle comme facteur de tri des variants

Au cours d'un processus d'invasions, les changements de pressions de sélection auxquels doit faire face une population envahissante sont déterminants. L'adaptation locale aux nouvelles conditions environnementales (biotiques et abiotiques) peut être primordiale pour expliquer le succès d'une invasion. Les environnements dans lesquels évoluent les populations introduites sont souvent très différents des environnements natifs d'où elles proviennent. Si tel est le cas, le succès de l'invasion dépendra alors du potentiel évolutif (*i.e.*, leur capacité à répondre aux nouvelles pressions de sélection) des populations introduites. L'adaptation des organismes au cours des invasions biologiques a notamment été mise en évidence par une série d'approches mêlant simulations, cas d'étude et méta-analyses (Colautti and Lau, 2015). La sélection s'appuie sur la variation phénotypique des organismes qui, au cours d'une invasion biologique, est fortement influencée par la dérive génétique et la migration (voir ci-dessous).

2.2.2 La dérive génétique comme facteur de perte de variabilité

La phase d'introduction est initiée par un échantillonnage aléatoire des individus présents dans l'aire native. Le nombre d'individus est souvent faible, ce qui potentiellement peut avoir de lourdes conséquences sur le processus d'invasion. Les populations introduites correspondent aussi à un échantillonnage non représentatif de la population initiale et lui font subir un goulot d'étranglement démographique (effet fondateur; Dlugosch and Parker, 2008). Cet effet fondateur a souvent été mis en évidence au cours des invasions biologiques (Schulte et al., 2013). L'effet de la dérive génétique est d'autant plus important que les tailles efficaces des populations introduites, et se maintenant post-introduction, sont faibles (Nei et al., 1975). La dérive génétique peut accentuer les changements évolutifs avec la perte ou la fixation de certains allèles par le simple fait du hasard (Brown and Marshall, 1981; Barrett and Husband, 1990).

Enfin, plus le nombre d'individus introduits est restreint, plus la variabilité génétique de la population introduite est faible (Sakai et al., 2001; Tsutsui et al., 2000), ce qui entraîne potentiellement une diminution de la réponse à la sélection. Ainsi, la taille du goulot d'étranglement peut avoir un effet déterminant sur le processus d'invasion et son succès. Cela a été montré sur la punaise d'eau (*Aquarius najas*) par exemple, pour laquelle la probabilité de succès de colonisation d'un nouvel environnement augmente avec la taille de la populations introduite (Ahlroth et al., 2003). Cet effet est en interaction avec la fréquence de l'introduction de nouveaux individus dans la population.

Alors que ces processus entraînent une forte diminution de la variance génétique, il peut paraître surprenant de voir des populations introduites, coloniser et envahir des nouveaux environnements (Estoup et al., 2016). Cette incohérence est connue sous le nom du "paradoxe génétique". Plusieurs points sont à considérer pour comprendre

le paradoxe génétique des populations envahissantes. Premièrement, les populations envahissantes ont une diversité génétique similaire voire supérieure aux populations natives (Bossdorf et al., 2005; Roman and Darling, 2007). Deuxièmement, les populations envahissantes ne sont pas forcément confrontées à un défi évolutif (hypothèse de la pré-adaptation, voir encadré 2, Facon et al., 2006). Troisièmement, même si certaines populations envahissantes semblent réunir toutes les conditions d'un paradoxe génétique, ce paradoxe semble faux car le proxy utilisé pour caractériser la variation génétique est inadéquat. En effet, la perte de diversité observée sur un petit ensemble de marqueurs génétiques neutres ne reflète pas forcément la baisse de variation génétique des caractères écologiques pertinents (McKay and Latta, 2002; Dlugosch and Parker, 2008). La variation génétique à des locus neutres et à des caractères écologiquement pertinents peut même s'avérer faible en raison d'une adaptation réussie aux nouvelles conditions environnementales. Dans certaines invasions, cependant, le paradoxe génétique semble authentique. Dans ces situations, une large gamme de mécanismes évolutifs, comme la plasticité phénotypique adaptative, permet à la population envahissante de surmonter les diverses conséquences néfastes d'une faible variation génétique et de l'adapter à son nouvel environnement (Estoup et al., 2016).

2.2.3 La migration comme générateur de variabilité mais aussi de maladaptation

La migration reste une force évolutive influençant fortement le processus d'invasion pendant les étapes de l'établissement et l'expansion. L'apport répété de nouveaux migrants correspond à un apport de nouveaux variants génétiques dans la population introduite (Lavergne and Molofsky, 2007). Une méta-analyse a confirmé que la pression de propagule (*i.e.*, le nombre d'individus introduits initialement et fréquence des introductions) est un paramètre clé dans le succès d'une invasion puisqu'il est impliqué dans 55 des 64 invasions étudiées (Colautti et al., 2006). L'hybridation entre individus provenant de populations sources différenciées, a été évoquée comme mécanisme clé. Même si ce phénomène peut être responsable de maladaptations chroniques par l'apport continu d'allèles non-adaptés (Ronce and Kirkpatrick, 2001; Barker et al., 2019), il peut aussi permettre l'adaptation au cours d'une invasion biologique en apportant de nouveaux variants (Carvalho et al., 2010). L'hybridation a le potentiel de faciliter les invasions en créant des interactions génétiques positives uniques entre allèles précédemment isolés, ce qui pourrait augmenter la valeur sélective d'individus des populations mélangées (Wagner et al., 2017; Keller and Taylor, 2010).

2.2.4 La mutation : un facteur souvent négligé

Le processus d'adaptation s'appuie principalement sur la variabilité génétique pré-existante dans la population introduite, comme évoqué dans les sections précédentes. Cependant, la variabilité génétique peut aussi être générée dans un second temps, par

les mutations apparaissant au cours du processus d'invasion (Dlugosch et al., 2015). Le temps observé parfois entre l'introduction et la prolifération peut être dû à un manque de variabilité génétique initiale (Pappert et al., 2000; Lee, 2002).

2.3 Caractères évoluant au cours de l'invasion

Plusieurs caractères ont été mis en évidence comme évoluant au cours de l'invasion, témoignant du rôle de l'adaptation dans le succès d'une invasion biologique (Lee, 2002). Ces observations sont souvent utilisées comme preuve du changement évolutif des populations au cours des invasions biologiques (Keller and Taylor, 2008). Ces caractères peuvent être considérés comme potentiellement associés au succès invasif.

2.3.1 Des adaptations portant sur une multitude de caractères

2.3.1.1 Caractères associés à des adaptations aux pressions abiotiques

Un exemple marquant d'adaptation aux conditions environnementales abiotiques au cours d'une invasion biologique est l'adaptation des espèces marines aux environnements d'eau douce. Le copépode *Eurytemora affinis* a changé physiologiquement au cours de ses invasions biologiques (Lee, 1999). Une adaptation clé a été l'augmentation de sa tolérance à l'eau douce et la réduction de sa tolérance à l'eau salée (Lee et al., 2007, 2003). Des données environnementales et d'expériences en jardin commun mettent en évidence un patron d'adaptation locale dans l'aire native des populations d'algues rouges envahissantes *Gracilaria vermiculophylla*, ces dernières montrent une tolérance plus élevée aux températures chaudes dans l'aire envahie comparée à l'aire native (Sotka et al., 2018).

2.3.1.2 Caractères associés à des adaptations aux pressions biotiques

Plusieurs exemples illustrent comment l'adaptation aux nouvelles conditions biotiques de l'aire envahie a permis le succès de l'invasion. En raison du relâchement de pressions de sélection dans l'aire envahie (absence de compétiteurs, prédateurs ou pathogènes), la réallocation de ressources sur d'autres caractères peut permettre le succès de l'invasion (hypothèse "EICA", voir encadré 2, Blossey and Notzold, 1995). C'est le cas pour de nombreuses plantes envahissantes, pour lesquelles la réallocation dans la croissance et la reproduction évoluent au cours de l'invasion (Blair and Wolfe, 2004).

Des adaptations aux conditions biotiques peuvent également être mises en évidence, comme l'adaptation à des environnements compétitifs (Alzate et al., 2017; Stuart et al., 2014). Les micro-organismes ayant co-évolué avec les populations envahissantes, mais également présents dans l'aire d'introduction, influencent les invasions biologiques (Amsellem et al., 2017). Par exemple, la présence du symbiote *Rickettsia sp. nr. bellii* dans l'aire native a permis le succès de l'invasion du ravageur *Bemisia tabaci* (Himmler et al., 2011).

2.3.1.3 Caractères associés à des adaptations aux pressions liées au processus d'invasion lui-même

Les caractères influençant le processus d'invasion (*i.e.*, l'émigration, l'introduction, l'établissement et l'expansion) ne sont pas forcément liés à l'adaptation aux conditions environnementales. Certains peuvent être directement impliqués dans le processus d'invasion lui-même. Les caractères liés à la dispersion et la migration peuvent être clés dans le processus d'invasion biologique. Augmenter sa capacité de dispersion peut permettre d'envahir de nouveaux environnements. Chez les crapauds *Bufo marinus* invasifs en Australie, la capacité de dispersion est sélectionnée en début d'invasion, puis contre-sélectionnée. En effet, ces crapauds sont caractérisés par des pattes plus longues sur le front d'invasion que dans les zones où les populations sont établies depuis longtemps (Phillips et al., 2006). Cette différence morphologique explique la différence de vitesse d'expansion allant de dix kilomètres par an dans les zones établies à 50 kilomètres par an dans les zones de front d'invasion (Phillips et al., 2006). D'après une étude sur 93 espèces de plantes, les caractères liés à la capacité de dispersion seraient clés dans le processus et le succès invasif (Moravcová et al., 2015). En particulier, certaines adaptations dans les populations envahissantes favorisent leur migration via certains vecteurs de transports comme les eaux de ballast des bateaux (Carlton and Geller, 1993), comme le montre l'augmentation du temps de diapause dans les populations de *Daphnia lumholtzi* introduites aux États-Unis (Panov et al., 2004).

La capacité d'un organisme à se développer dans un nouvel environnement par plasticité phénotypique peut également être sélectionnée au cours d'un processus d'invasion biologique (Baker and Stebbins, 1965). L'évolution de la plasticité phénotypique a ainsi souvent été évoquée comme un caractère clé dans la colonisation d'un nouvel environnement (Lande, 2015). Une récente méta-analyse sur 75 espèces de plantes a comparé la plasticité phénotypique entre populations natives et envahissantes. Les populations envahissantes seraient effectivement en moyenne plus plastiques que les populations natives de la même espèce (Davidson et al., 2011).

Enfin, les populations envahissantes sont souvent caractérisées par des stratégies d'histoire de vie, dites de type "r" c'est-à-dire avec des taux de croissances élevés, des fécondités élevées et des temps de générations courts (Sakai et al., 2001). Par exemple, les populations envahissantes de *Coregonus albula* ont une taille adulte plus faible et un âge de première reproduction plus jeune que les populations natives (Amundsen et al., 2012).

2.3.2 Des processus adaptatifs difficilement généralisables

Même si de nombreux caractères ont été proposés pour expliquer le succès d'une invasion, il reste difficile de cibler des candidats qui seraient valides pour toutes les situations (Allen et al., 2013). Il semblerait plutôt que chaque invasion biologique reflète

un processus évolutif potentiellement différent. Un caractère fortement impliqué chez une espèce lors d'une invasion, ne l'est pas forcément chez une autre (Allen et al., 2013). L'influence d'un caractère peut être dépendante de l'environnement envahi plutôt que de l'espèce étudiée (Facon et al., 2006). Aussi, les caractères favorisant l'adaptation et le succès d'une invasion ne sont pas les mêmes tout au long de l'invasion (Sakai et al., 2001). Chez *Potamopyrgus antipodarum*, native de Nouvelle-Zélande et envahissante dans les écosystèmes aquatiques du monde entier, les caractères liés à la tolérance à des gammes physico-chimiques larges seraient clés pour le succès de la phase d'émigration (Alonso and Castro-Díez, 2008). En revanche, des capacités compétitives élevées semblent être le facteur déterminant durant la phase d'établissement de cette espèce (Alonso and Castro-Díez, 2008).

Des expériences de transplantation réciproque ou de jardin commun sont nécessaires pour souligner que les différences phénotypiques entre les populations natives et envahissantes ont une base génétique (Tayeh et al., 2015; Bertelsmeier and Keller, 2018; Colautti and Lau, 2015). Néanmoins, ce type d'expérience est réalisable uniquement lorsque le nombre de caractère testé est faible. Or, il est souvent difficile d'avoir des caractères candidats potentiels *a priori*.

2.4 Questions d'intérêts

Les invasions biologiques sont des expériences *in natura* qui nous permettent d'étudier l'évolution contemporaine des populations et l'adaptation des organismes face à un changement d'environnement (Colautti and Lau, 2015). Étudier ce processus est idéal pour comprendre l'évolution de populations qui n'ont pas encore atteint leur équilibre évolutif. En dépit de l'ancienneté des études sur les invasions biologiques (Elton, 1958), de nombreuses questions restent encore à approfondir pour tenter de formaliser une théorie unifiée du processus d'invasion biologique. La difficulté provient à la fois de la diversité des forces évolutives impliquées, du nombre et de la dynamique des caractères et des environnements impliqués. Dans ce cadre, une première étape est de tenter d'élucider les différents points suivants : (i) alors que de nombreux caractères peuvent évoluer, quels sont les caractères fortement impliqués dans le succès d'une invasion? (ii) Ces caractères sont-ils liés aux conditions environnementales biotiques, abiotiques ou au processus de l'invasion lui-même? (iii) Lorsque plusieurs processus d'invasion biologique indépendants ont lieu dans la même espèce, retrouve-t-on toujours les mêmes caractères impliqués? Comme je l'ai évoqué précédemment, des méthodes comparant les génomes dans leur globalité peuvent être utilisées dans ce but (Welles and Dlugosch, 2019). Ce type d'approche permet de cibler des gènes clés, indicateurs de potentiels caractères candidats, différenciés entre l'aire native et l'aire envahie, qui par la suite peuvent être étudiés expérimentalement.

L'ensemble de ces questions et démarches est pertinent pour toute espèce envahissante. Elles le sont notamment pour l'espèce qui nous intéresse plus particulièrement ici : la mouche des fruits *Drosophila suzukii* caractérisée par un fort succès invasif et par des caractères écologiques liés à son spectre d'hôtes posant la question du rôle éventuel de son niveau de spécialisation écologique dans son succès invasif.

3. Spécialisation écologique

3.1 Définition

La spécialisation d'un organisme, d'une population ou d'une espèce est un processus complexe faisant intervenir de nombreux facteurs écologiques (ex. : complexité du paysage) et évolutifs (ex. : sélection naturelle ; Devictor et al., 2010; Poisot et al., 2011; Ravigné et al., 2009). Ce processus peut être décrit comme l'adaptation à un spectre restreint de la gamme d'environnements utilisés par un organisme pour survivre ou se reproduire, et/ou la restriction d'environnements disponibles pour un organisme sans changement évolutif (Devictor et al., 2010; Bolnick and Svanba, 2003). Nous nous intéresserons ici uniquement au premier point de cette définition, à savoir la spécialisation liée à des changements évolutifs.

3.2 Spécialisation et adaptation locale

3.2.1 Définitions, patrons et mesures

3.2.1.1 Deux processus distincts

De nombreuses confusions existent autour des processus de spécialisation et d'adaptation locale, qui sont parfois considérés comme identiques. Cette confusion vient du fait que de nombreuses études se sont intéressées à ces processus de manière indépendante sans clairement les définir l'un par rapport à l'autre. Ici, nous considérerons la spécialisation comme un processus où une population s'adapte à une partie restreinte de son environnement. L'adaptation locale correspond quant à elle au processus durant lequel une population s'adapte aux conditions environnementales locales dans lesquelles elle évolue.

3.2.1.2 Deux patrons indépendants

A l'exception des expériences où les pressions de sélection sont gérées en conditions contrôlées (évolution expérimentale), il est difficile de suivre ces deux processus en temps réel. L'observation de patrons permet d'attester de l'occurrence d'un processus. Les patrons d'adaptation locale et de spécialisation sont différents et peuvent être mis en évidence dans les populations par des expériences de transplantations réciproques. Plusieurs critères sont utilisés pour tester les patrons de spécialisation et d'adaptation locale (ex. : Garrido et al., 2012; Franceschi et al., 2010).

Un individu est considéré comme spécialisé à un environnement lorsque sa valeur sélective est supérieure dans cet environnement comparée à sa valeur sélective dans d'autres environnements. L'approche "domicile *vs.* ailleurs" ("Home *vs.* Away", HA) permet de comparer la valeur sélective d'une population à domicile ("Home") à la valeur sélective de cette population transplantée dans tous les autres environnements ("Away", Kawecki and Ebert, 2004). Ce critère s'apparente plus à une mesure du degré de spécialisation des populations dans différents environnements.

Un individu est considéré comme adapté localement à un environnement "E" lorsque sa valeur sélective mesurée dans cet environnement est supérieure à la valeur sélective d'individus ayant évolué dans d'autres environnements mais mesurée dans cet environnement "E" (Kawecki and Ebert, 2004). Avec l'approche "local *vs.* étranger" ("Local *vs.* Foreign", LF), les valeurs sélectives de plusieurs populations sont comparées dans un même habitat. La valeur sélective d'une population focale ("Local") à domicile est comparée à celles de toutes les autres populations ("Foreign") lorsqu'elles sont transplantées dans cet environnement focal.

Un individu peut ainsi être non-adapté localement et généraliste. Sa valeur sélective dans l'environnement focal n'est alors pas supérieure à la valeur sélective dans cet environnement des individus provenant des autres environnements, et sa valeur sélective est constante entre tous les environnements (Fig. 9). Un individu peut aussi être adapté localement et spécialiste de cet environnement. Sa valeur sélective dans cet environnement est alors supérieure à la valeur sélective des individus provenant des autres environnements, mais est inférieure lorsqu'elle est mesurée dans les autres environnements. (Fig. 9). Sicard et al. (2007), ont par exemple trouvé une corrélation positive entre adaptation locale et spécialisation chez le parasite *Colletotrichum lindemuthianum*. En théorie, un individu peut également être adapté localement et généraliste. Sa valeur sélective dans son environnement est dans ce cas supérieure à celle des individus dans cet environnement mais provenant d'autres environnements, et sa valeur sélective est constante entre tous les environnements (Fig. 9). A l'opposé, un individu non-adapté localement peut être spécialiste d'un environnement (*i.e.*, sa valeur sélective dans cet environnement est inférieure ou égale à celle des individus provenant d'autres environnements et sa valeur sélective est supérieure dans cet environnement que dans les autres environnements, Fig. 9). Ce dernier cas de figure est biologiquement difficile à imaginer et est uniquement possible si les deux processus sont considérés comme totalement indépendants.

3.2.1.3 L'adaptation locale peut entraîner la spécialisation

Alors que la spécialisation et l'adaptation locale peuvent être considérées comme deux processus distincts, ils ne sont tout de même pas indépendants. L'adaptation locale

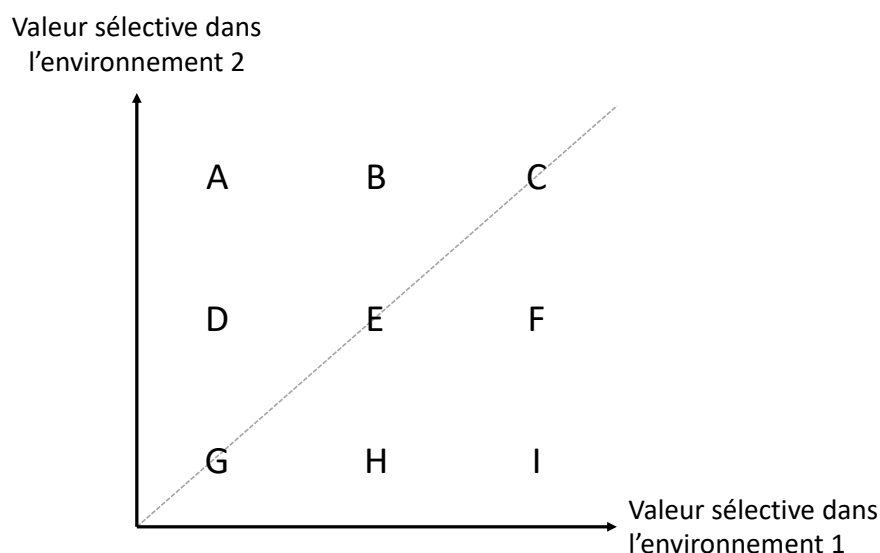


Figure 9 – Patron d'adaptation locale *vs.* spécialisation. Les valeurs sélectives de neuf génotypes différents dans deux environnements. Tous les génotypes existant dans un scénario simplifié dans lequel trois niveaux de valeur sélective sont possibles dans chacun des deux environnements. Les génotypes A, B et C sont adaptés localement sur l'environnement 2 (*i.e.*, ils ont une meilleure valeur sélective dans l'environnement 2 que les autres génotypes). Les génotypes C, F et I sont adaptés localement à l'environnement 1 (*i.e.*, ils ont une meilleure valeur sélective dans l'environnement 1 que les autres génotypes). Les génotypes F, H et I sont des spécialistes de l'environnement 1 (meilleure valeur sélective dans l'environnement 1 que dans l'environnement 2). Les génotypes A, B et D sont des spécialistes de l'environnement 2 (*i.e.*, ils ont une meilleure valeur sélective dans l'environnement 2 que l'environnement 1). Enfin, les génotypes G, E et C sont des généralistes (*i.e.*, ils ont une valeur sélective égale dans les deux environnements).

peut être considérée comme une première étape lors d'un processus de spécialisation (Lenormand, 2012). Lors d'un processus d'adaptation locale, un génotype va augmenter sa valeur sélective dans un environnement. Cette adaptation va être due à l'augmentation en fréquence d'allèles bénéfiques à cet environnement. Cependant, l'effet de ces allèles peut être corrélé négativement dans d'autres environnements (Fry, 1996). Cette pléiotropie antagoniste est à l'origine de compromis en valeurs sélectives entre environnements (appelés aussi "*trade-offs*"). Même si la valeur sélective conférée par ces allèles n'est pas négativement corrélée à celle dans d'autres environnements, des compromis entre environnements peuvent évoluer. Si l'organisme adapté localement réside principalement dans un environnement, la sélection sur les allèles permettant le développement dans les autres environnements est relâchée. Des mutations délétères

peuvent s'accumuler sur ces gènes, entraînant une diminution de la valeur sélective sur ces autres environnements (Kawecki et al., 1997). L'accumulation de mutations délétères dans les autres environnements, ne sera pas contre-sélectionnée si elles ont un effet neutre dans l'environnement focal. L'adaptation locale à un environnement peut donc entraîner la spécialisation à cet environnement par le biais de ces compromis entre environnements, qu'ils soient inhérents (pléiotropie antagoniste) ou apparus par relâchement de pressions de sélection (accumulation de mutation délétères).

3.2.1.4 Mesurer l'adaptation locale et la spécialisation

Les critères présentés ci-dessus, "Home *vs.* Away" et "Local *vs.* Foreign" ne rendent pas correctement compte de la variabilité générée par les effets de la qualité de l'environnement et/ou de la population. L'existence d'hétérogénéité environnementale signifie que les habitats disponibles ne sont pas tous égaux pour une population donnée. Il semble donc nécessaire de prendre en compte cette variabilité lorsque l'on considère la valeur sélective (ex. : nombre de descendants produits) dans chacun des environnements testés. Il en est de même avec les différentes populations testées qui peuvent être génétiquement de qualités différentes.

Une approche unificatrice consiste à examiner conjointement les populations et les environnements dans un cadre de méta-population (Blanquart et al., 2013). Cette approche, par le biais de la détection de compromis entre environnements, permet de mettre en évidence un patron d'adaptation locale ainsi qu'un patron de spécialisation. Elle consiste à calculer la différence entre la valeur sélective moyenne dans les combinaisons sympatriques de populations et de sites et la valeur sélective moyenne dans les combinaisons allopatriques (critère "SA"). Plus spécifiquement, la méthode du SA compare la valeur sélective des populations sympatriques (mesures de valeur sélective des populations testées sur leur environnement d'origine) à celle des populations allopatriques (mesures de la valeur sélective des populations testées sur des environnement différents de leur environnement d'origine), tout en contrôlant les variations environnementales (*i.e.*, les variations de la qualité des environnements) et intrinsèque aux populations sources (*i.e.*, en raison de différences génétiques parmi les populations testées). Il est important de contrôler ces effets, notamment lorsque la variation entre environnements ou entre populations est importante (ex. : un environnement où la population produit plus de descendants car de "bonne qualité", ou une population qui produit moins de descendants car de "mauvaise qualité").

Blanquart et al. (2013) ont évalué la puissance de l'approche utilisant le critère 'sympatrique – allopatrique' par rapport aux méthodes "Home *vs.* Away" et "Local *vs.* Foreign". L'approche utilisant le SA a plus de puissance pour détecter l'adaptation locale, et par la même occasion la spécialisation éventuelle, que d'autres définitions

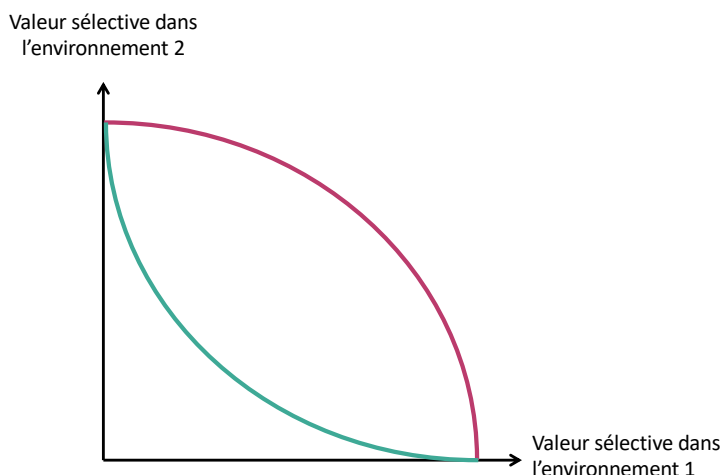


Figure 10 – Formes des compromis en valeur sélective entre environnements. Le compromis concave, représenté en violet, correspond à un compromis faible favorisant l'évolution de généralistes. Le compromis convexe, représenté en vert, correspond à un compromis fort favorisant l'évolution de spécialistes.

plus restrictives de l'adaptation locale, notamment les approches "Home *vs.* Away" et "Local *vs.* Foreign" décrites par Kawecki and Ebert, 2004. Il faut tout de même noter que la méthode SA détecte un patron d'adaptation locale moyen à l'échelle de la métapopulation (Blanquart et al., 2013).

3.2.2 Facteurs favorisant l'évolution de la spécialisation

Nous avons vu que l'adaptation locale et la spécialisation sont deux phénomènes distincts, mais pouvant exister de manière concomitante. Nous allons voir maintenant dans quelles circonstances ces processus évoluent. Lorsque l'on s'intéresse aux mécanismes écologiques et évolutifs influençant l'évolution de l'adaptation locale dans un contexte de spécialisation écologique, deux facteurs s'avèrent clés : les compromis évolutifs entre environnements ou "*trade-offs*" et le grain de l'hétérogénéité environnementale (Stearns, 1989; Levins, 1968).

Les compromis évolutifs, ou corrélation génétique négative, favorisent l'évolution de la spécialisation. Il a été montré théoriquement et expérimentalement que la force et la forme des compromis entre environnements vont influencer l'évolution de la spécialisation (Kisdi and Geritz, 1999). Si la forme des compromis entre les deux environnements est fortement convexe (*i.e.*, courbe de la valeur sélective dans un environnement en fonction de la valeur sélective dans l'autre environnement caractérisée par une dérivée seconde positive, Fig. 10), alors le compromis est fort. Une stratégie spécialiste sera favorisée, de manière évolutivement stable. A l'opposé, un compromis concave, caractérisée par une courbe des compromis entre environnements avec une dérivée

seconde négative, correspond à un compromis faible. Il mène souvent à la sélection d'une stratégie généraliste évolutivement stable (White et al., 2006; Maharjan et al., 2013; Levins, 1962, Fig. 10). Ces tendances sont tout de même à pondérer par d'autres facteurs, comme le régime de maintien du polymorphisme dans les populations ("*hard*" ou "*soft*" sélection) ou l'évolution conjointe d'autres caractères comme la sélection d'habitat (Ravigné et al., 2009). En considérant ces éléments, les stratégies évolutivement stables sont plus réduites. Par exemple, si la dispersion est prise en compte et peut évoluer, l'équilibre évolutif n'est pas stable et inclut dans la grande majorité des cas des spécialistes faiblement dispersants et localement adaptés (Kisdi, 2002).

Le grain, représentant l'échelle de la variation environnementale (voir section 1.1.2), joue un rôle déterminant dans le processus de spécialisation (Kassen, 2002). Si un organisme rencontre plusieurs conditions environnementales au cours de sa vie (grain de l'hétérogénéité spatiale fin), alors une stratégie généraliste sera favorisée si les compromis sont faibles. Dans la situation où les compromis sont forts, deux spécialistes différents seront favorisés dans un environnement spatialement hétérogène. Cependant, indépendamment des compromis, la spécialisation est prédite dans le cas où la variation de l'hétérogénéité spatiale est large (grain grossier, Levins, 1968). En revanche, lorsque l'environnement fluctue temporellement, quel que soit le grain de ces variations, l'évolution d'un généraliste est attendue (Kassen, 2002; Levins, 1968). Buckling et al. (2007) ont fait évoluer expérimentalement la bactérie *Pseudomonas fluorescens* dans un environnement (milieu de culture) dont la qualité variait au cours du temps. Comme attendu, des génotypes généralistes ont été sélectionnés (pour un autre exemple, voir aussi Kassen and Bell (1998) avec l'algue *Chlamydomonas reinhardtii*). Peu d'études ont testé expérimentalement l'effet du grain de l'hétérogénéité temporelle, possiblement du fait d'attendus théoriques *a priori* très clairs. Certaines expériences ont tout de même montré un effet de la fréquence des fluctuations de l'environnement sur le maintien du polymorphisme génétique (Venail et al., 2011; Suiter et al., 2003).

L'influence des compromis évolutifs et du grain de l'hétérogénéité environnementale dépend tout de même de leurs intensités relatives. De forts compromis entre environnements peuvent entraîner l'évolution de la spécialisation, malgré un environnement qui varie au cours du temps. Symétriquement, la forme de ces compromis peut avoir plus ou moins d'influence en fonction du grain de l'hétérogénéité (ex. : évolution d'adaptation locale et de spécialiste si la variabilité environnementale s'étale sur une longue échelle temporelle). Considérer ces deux facteurs de façon indépendante est possible et souvent réalisé. *A contrario*, considérer ces facteurs simultanément reste difficile mais sans connaître leur intensité relative, il est difficile de réaliser des prédictions.

3.2.3 Populations théoriques à l'équilibre

Comme vu précédemment, l'évolution de l'adaptation locale et de la spécialisation est influencée par de nombreux facteurs écologiques comme l'hétérogénéité environnementale des facteurs évolutifs comme l'effet des différentes forces évolutives, mais également des facteurs intrinsèques à l'espèce comme la force des compromis entre environnements. Il est important de noter que les modèles prédisant l'évolution de la spécialisation et testant l'influence de ces facteurs considèrent des populations à l'équilibre évolutif. Lorsque l'environnement change, les pressions de sélection changent, si bien que les populations ne sont pas à l'équilibre. Dans le cadre d'une invasion biologique par exemple, les populations envahissantes sont confrontées à de nouveaux environnements et ne sont généralement pas considérées comme étant à l'équilibre. Dans ce cadre, de nombreux changements évolutifs peuvent survenir avant qu'elles n'atteignent leur équilibre évolutif.

3.3 Spécialisation chez les insectes phytophages

Dans le règne animal, les insectes sont actuellement perçus comme le groupe le plus diversifié avec 1.3 million d'espèces décrites et avec une estimation totale d'espèces de 2 à 100 millions (Nielsen and Mound, 2000; May and Beverton, 1990). Certains insectes sont phytophages c'est-à-dire qu'ils se nourrissent de plantes (Odegaard et al., 2000). L'interaction entre les phytophages et leurs plantes hôtes a été proposée comme un des facteurs déterminants de la diversification des insectes (Matsubayashi et al., 2010; Bernays and Chapman, 1994). Le succès évolutif des insectes phytophages a été souvent associé à leur degré de spécialisation marqué, car la plupart de ces espèces n'utilisent qu'une partie restreinte des hôtes disponibles dans leur environnement (Futuyma and Moreno, 1988; Bernays and Chapman, 1994).

3.3.1 Degré de spécialisation : un continuum

Le degré de spécialisation d'un phytophage peut être défini sur un gradient (Forister et al., 2012; Poisot et al., 2015). Ce continuum va des spécialistes aux généralistes, soit d'espèces ne consommant qu'une espèce de plante hôte à des espèces consommant de nombreuses plantes hôtes de plusieurs familles différentes (Normark and Johnson, 2011). Ce degré de spécialisation d'une espèce phytophage a été défini de manière discrète par Bernays and Chapman (1994), en trois catégories. Les monophages ne consomment qu'un seul genre de plante, voire une seule espèce. Le papillon *Heliconius melpomene* est ainsi considéré comme monophage, car il n'utilise qu'une espèce de plante : *Passiflora oerstedii* (Smiley, 1978). Les oligophages consomment plusieurs genres de plantes, mais toujours de la même famille. *Pieris brassicae*, la piéride du chou, est ainsi considérée comme oligophage, car cette espèce a été observée sur plusieurs plantes de la famille des Brassicaceae (Chew and Renwick, 1995). Enfin, les polyphages consomment un grand

nombre de plantes provenant de plusieurs familles différentes. *Prodenia eridania* est ainsi considérée comme polyphage car sa gamme d'hôtes contient plus de 74 espèces de plantes provenant de 64 genres et 32 familles de plantes (Soo Hoo and Fraenkel, 1966). Alors que ces termes sont largement utilisés (Thompson, 1998a; Cates, 1980), leur usage pose de nombreuses questions.

3.3.1.1 Limites sémantiques de l'utilisation des termes "généraliste" et "spécialiste"

- **Plusieurs définitions pour les mêmes termes**

Les termes monophage, oligophage et polyphage sont fréquemment utilisés dans la littérature scientifique mais avec des définitions parfois différentes. Pour Jaenike (1990) les monophages consomment une seule famille de plantes, les oligophages deux familles et les polyphages minimum trois familles de plantes. Pour Schoonhoven et al. (2005), les monophages consomment une espèce de plante ou peu d'espèces proches, tandis que les oligophages consomment plusieurs espèces d'une seule famille. De la même manière, le terme spécialiste peut être utilisé pour définir une espèce se nourrissant d'une seule espèce de plante (Schäpers et al., 2016; Roslin and Salminen, 2008) ou une espèce se nourrissant de peu d'espèces appartenant à la même famille (Liu et al., 2012; García-Robledo and Horvitz, 2012).

- **Aspect catégoriel pour une notion graduelle**

Une limite importante dans l'utilisation de ces termes est leur aspect catégoriel. Comme précisé ci-dessus, le degré de spécialisation est un continuum. Tenter de catégoriser les espèces entraîne des biais pour toutes les espèces situées entre les catégories et discrétise l'aspect graduel du degré de spécialisation.

3.3.1.2 Limites conceptuelles de l'utilisation des termes "généraliste" et "spécialiste"

- **Aspect immuable pour un processus dynamique**

Une limite encore plus problématique dans l'utilisation de ces termes est leur aspect figé. En catégorisant les espèces par leur degré de spécialisation, ce dernier semble immuable. Or, le degré de spécialisation est souvent déterminé par l'observation de la gamme d'hôtes d'une espèce à un moment donné dans un environnement donné. Comme vu précédemment, un processus de spécialisation peut entraîner l'évolution du degré de spécialisation des organismes. En effet, les changements de la gamme d'hôtes utilisés par une espèce sont dynamiques (Janz et al., 2001). Nosil (2002) a étudié les taux de spécialisation et de généralisation chez les insectes phytophages, avec des approches de phylogénies. Cette étude montre que l'évolution de généraliste à spécialiste ou sa réciproque est possible. Il apparaît notamment que la transition de généraliste vers spécialiste est significativement plus fréquente que la réciproque.

- ***Aspect spécifique pour une variabilité entre populations***

Une limite supplémentaire à toutes ces définitions est leur focalisation à l'échelle taxonomique d'espèce; pourtant le degré de spécialisation est défini par l'observation de la gamme d'hôtes des individus d'une ou plusieurs populations particulières. Les différentes populations d'une espèce peuvent pourtant être spécialisées à des degrés différents, voire à des hôtes différents. Par exemple, *Drosophila mojavensis* est une espèce composée de quatre races d'hôtes exploitant différentes espèces de cactus, qui sont isolées d'un point de vue génétique et géographique (Reed et al., 2007). A l'échelle de l'espèce, cette dernière peut être caractérisée comme généraliste alors qu'elle est composée de plusieurs populations spécialisées sur des plantes différentes. De même, plusieurs espèces considérées comme généralistes se sont avérées en réalité constituées de différentes races d'hôtes (Malaus et al., 2007; Simon et al., 2003; Via et al., 2000). Il est important de noter que la spécialisation peut être également temporelle. Enfin, lorsque la disponibilité en hôtes est variable dans le temps (hétérogénéité temporelle de l'environnement), les organismes peuvent s'adapter temporellement à ces hôtes (Chew and Courtney, 1991; Cronin et al., 2001; Futuyma, 1976). Aussi, observer une espèce au cours de l'année sur différents hôtes ne garantit pas que cette espèce soit généraliste.

- ***Aspect confusionnel entre observation sur un hôte et utilisation d'un hôte***

Une dernière limite importante à mentionner repose sur le fait qu'observer un insecte sur une plante hôte est souvent interprété comme une preuve de l'utilisation de cette plante par l'espèce pour se développer ou pour se nourrir. Etre présent sur un hôte ne signifie pas pour autant se développer dans cet hôte. Le degré de spécialisation des populations naturelles est souvent déterminé directement dans les populations naturelles par des observations, sans même mesurer les caractères reflétant l'utilisation de ces hôtes. Un phytophage peut être observé sur une plante hôte, alors que sa capacité à développer une descendance viable y est limitée. Les mesures des préférences et performances en laboratoire semblent donc cruciales. Néanmoins, il ne faut pas oublier que les mesures en laboratoire permettent de déterminer la niche fondamentale (*i.e.*, la gamme complète de conditions biotiques et abiotiques, et de ressources dans lesquelles un organisme pourrait survivre et se reproduire). Il est important de noter que cette niche fondamentale est en réalité souvent plus large que la niche réalisée (*i.e.*, la gamme de conditions biotiques et abiotiques, et de ressources dans lesquelles un organisme survit et se reproduit, en considérant les pressions de sélection dues par exemple aux autres compétiteurs).

3.3.2 Caractères associés à la spécialisation : préférence et performance

Fondamentalement, l'utilisation de l'hôte est déterminée (*i*) par les décisions des femelles en ce qui concerne le lieu de dépôt des œufs (préférence de ponte) et (*ii*) par

la capacité de leurs larves à se développer en adultes sur l'hôte choisi (performance larvaire; Ravigné et al., 2009; Jaenike, 1990). Ainsi, la caractérisation de la préférence de ponte adulte et de la performance larvaire représente un premier pas important vers une meilleure compréhension de l'utilisation de l'hôte.

3.3.2.1 Préférence des adultes

La préférence correspond à un comportement, non aléatoire, de choix hiérarchique des plantes pour la ponte par les femelles. Il recouvre une phase de recherche (découverte de l'hôte) et une phase de reconnaissance ou discrimination (Schoonhoven et al., 2005; Visser, 1988). L'évolution de la spécialisation comportementale et du choix d'habitat a largement été étudiée (Ravigné et al., 2009; Jaenike and Holt, 1991). Le choix de site de ponte représente un caractère majeur de la spécialisation à la plante hôte dû aux capacités de dispersion des larves d'insectes phytophages généralement faibles (Singer et al., 1988; Thompson and Pellmyr, 1991; Jaenike, 1990; Thompson, 1988). Un insecte phytophage peut être considéré comme spécialiste d'une plante hôte, s'il pond ses œufs uniquement sur cette plante hôte. Dans ce cas, on parle de spécialisation comportementale. Cette spécialisation résulte de contraintes comportementales dans le choix de l'environnement dans lequel va se développer l'organisme (Ferry-Graham et al., 2002; Forister et al., 2012). Les adultes *Papilio machaon* ont une préférence de ponte plus restreinte que la gamme de plantes hôtes sur lesquelles peuvent se développer les larves (Wiklund, 1975).

3.3.2.2 Performance larvaire

La survie des stades immatures est faible dans les populations naturelles d'insectes phytophages (Hawkins et al., 1997). La performance des larves pour parvenir à l'âge adulte est donc soumise à une forte pression de sélection. Plusieurs caractères comme la survie, le poids et le temps de développement permettent de décrire cette performance. Certains insectes sont considérés comme spécialistes, car la valeur sélective sur une plante hôte est corrélée négativement avec leur valeur sélective sur une autre plante hôte, sans nécessairement être associée à une préférence pour les hôtes maximisant leur valeur sélective (Bossart, 2003; Cronin et al., 2001). Dans ce cas, on parle de spécialisation physiologique. Comme son nom l'indique, cette spécialisation résulte de contraintes morphologiques ou physiologiques (Futuyma and Moreno, 1988). L'évolution de la spécialisation physiologique est souvent associée à l'évolution de l'adaptation locale (Ravigné et al., 2009).

3.3.2.3 Relations entre préférence et performance

Même si ces caractères ont souvent été étudiés séparément, il est nécessaire de les étudier simultanément car ils peuvent être liés. Les femelles qui ont la capacité de discriminer les différents hôtes selon la capacité de leurs descendants à s'y développer devraient être favorisées par sélection naturelle (Thompson, 1988; Mayhew, 1997; Jaenike,

1978; Levins and MacArthur, 1969). Pour maximiser sa valeur sélective, une femelle devrait préférer l'hôte sur lequel ses descendants ont la meilleure performance larvaire. Cette hypothèse de corrélation positive entre préférence (ici, dans le choix de ponte par la femelle adulte) et performance (des descendants juvéniles de la femelle) est également connue sous le nom de "*Mother knows best hypothesis*" (Jaenike, 1990; Thompson, 1988). Selon une méta-analyse, une corrélation positive entre préférence d'hôte et performance larvaire existerait dans des populations naturelles de différentes espèces d'insectes (Gripenberg et al., 2010). Via and Hawthorne (2002) ont par exemple révélé une liaison génétique entre la préférence et la performance chez le puceron vert du pois.

Si une corrélation positive est souvent observée (Gripenberg et al., 2010), une absence de corrélation positive a néanmoins régulièrement été reportée dans les populations naturelles de plusieurs espèces (Jallow and Zalucki, 2003; Valladares and Lawton, 1991; Poore and Steinberg, 1999; Futuyma and Moreno, 1988). Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ces incohérences apparentes (voir encadré 3 pour un résumé de ces hypothèses). Parmi ces hypothèses, la "*Time hypothesis*" s'avère particulièrement intéressante dans le cadre des environnements hétérogènes (Thompson, 1988; Chew, 1977; Wiklund, 1975). Selon cette hypothèse, la corrélation entre les préférences des adultes et les performances larvaires peut être faible lorsque les trajectoires évolutives sont en cours et que les populations sont en train de s'adapter aux nouvelles conditions environnementales (ex. : populations en situations de déséquilibre évolutif). Les invasions biologiques représentent de fait un cadre conceptuel pertinent pour tester et illustrer *a minima* cette hypothèse. En effet, lorsqu'un phytophage est introduit dans un nouvel environnement, les plantes hôtes disponibles ne sont plus les mêmes, au moins en partie, que celles présentes dans l'environnement natif, où il a évolué. Craig and Itami (2008) proposent une hypothèse alternative, plus générale, selon laquelle le manque de corrélation entre préférence et performance pourrait être lié au degré de spécialisation des insectes. Dans une méta-analyse testant les différents facteurs qui peuvent expliquer les données empiriques de relations entre préférence et performance, le degré de spécialisation a été mis en évidence comme facteur déterminant (Gripenberg et al., 2010). La corrélation entre préférence et performance serait plus forte chez les espèces spécialistes que chez les espèces généralistes. Étant adaptées à une gamme d'hôtes restreinte, l'intensité de la sélection dans le choix de ponte est plus importante chez les espèces spécialistes que chez les espèces généralistes. Même si ce n'est pas toujours le cas (ex. : Kelly and Bowers, 2016), plusieurs études empiriques semblent valider cette hypothèse (ex. : Charlery de la Masselière et al., 2017).

Encadré 3 : Liste non exhaustive des hypothèses proposées dans la littérature pour expliquer une absence de corrélation entre préférence de ponte et performance des larves

"Enemy free space hypothesis" Les performances sur les espèces de plantes peuvent être influencées par les ennemis, notamment prédateurs, parasitoïdes et compétiteurs, présents sur la plante. Par conséquent, le classement de la performance basé sur la survie et la croissance en l'absence des ennemis d'un insecte peut différer du classement en présence d'ennemis. La sélection naturelle pour l'utilisation de plantes hôtes est fortement basée sur cette hypothèse (Price et al., 1986, 1980; Lawton, 1979). Même si une plante est de bonne qualité, la présence d'ennemis naturels, peut diminuer la préférence du phytophage pour cet hôte. Un hôte de qualité moyenne mais sans ennemis naturels peut être favorisé (Craig and Itami, 2008).

"Patch dynamic hypothesis" La variation géographique de l'utilisation des hôtes suit parfois les variations géographiques des abondances relatives des hôtes potentiels (ex. : Williams, 1983). Ces tendances peuvent être dues aux différences génétiques de préférence entre les populations ou simplement à la disponibilité relative des espèces végétales. Lorsqu'un hôte n'est présent que durant une faible période, les capacités de la femelle à évaluer la qualité de cet hôte sont fortement contraintes et vont limiter la relation entre la préférence et la performance (Cronin et al., 2001).

"Time hypothesis" Le manque d'histoire évolutive entre un insecte et sa plante hôte peut diminuer cette relation. Lorsque de nouvelles espèces de plantes sont proposées aux insectes ou nouvellement introduites dans une communauté, les femelles peuvent parfois pondre sur ces plantes même si celles-ci sont relativement inappropriées ou même mortelles pour les larves (Thompson, 1988). La sélection peut prendre du temps soit pour réduire la tendance des femelles à pondre sur ces espèces végétales, soit pour augmenter la capacité de survie des larves à se développer sur ces plantes.

"Generalist hypothesis" Le manque de relation entre préférence et performance pourrait être plus fort chez les espèces généralistes que chez les espèces spécialistes (Gripenberg et al., 2010). Les spécialistes seraient mieux adaptés sur une petite proportion de gamme d'hôtes. Ils seraient donc sous plus fortes pressions de sélection sur la préférence de ponte (Craig and Itami, 2008).

Mobilité des larves Une forte corrélation entre préférence et performance des larves est attendue chez les phytophages, car les larves sont contraintes de se développer où les mères ont pondu leurs œufs. Cependant, chez les espèces où les larves sont mobiles, cette relation n'est pas attendue. Les larves mobiles ne sont pas contraintes par le choix des femelles et peuvent elles-mêmes choisir leur plante de développement (Chew, 1977).

Survie des femelles Sur une plante hôte, lorsque la survie des femelles n'est pas corrélée à celle des larves, une faible relation entre préférence et performance peut être observée. En maximisant leur survie, les femelles peuvent maximiser leur transmission de gènes en augmentant leur survie afin de pondre plus d'œufs, et sur leur vie totale avoir plus de descendants (Mayhew, 2001; Scheirs Jan et al., 2000).

3.4 Questions d'intérêts

Les différents éléments évoqués précédemment illustrent l'importance d'étudier l'adaptation à la plante hôte dans un cadre évolutif. Pour comprendre l'adaptation d'une population à son environnement notamment dans un contexte de spécialisation d'un phytophage, il me semble important de considérer le fait que les populations ne sont pas nécessairement à l'équilibre et que l'environnement est hétérogène spatialement et temporellement. Dans ce contexte, de nombreux aspects de la spécialisation restent non explorés comme par exemple : (i) Une espèce envahissante considérée comme généraliste dans l'aire d'introduction, l'est-elle car elle n'a pas atteint l'équilibre évolutif? (ii) N'étant pas à l'équilibre, peut-elle évoluer vers une espèce spécialiste en quelques générations si l'environnement est homogène? (iii) Dans cette dernière situation, des compromis évolutifs entre plantes hôtes peuvent-ils être détectés expérimentalement? (iv) Dans les conditions naturelles, où l'environnement est hétérogène spatialement et temporellement, des compromis évolutifs entre plantes hôtes peuvent-ils être détectés? Enfin, (v) une espèce considérée comme généraliste l'est-elle vraiment ou est-elle constituée d'un ensemble de populations spécialisées temporellement ou en cours de spécialisation? Pour tenter de répondre à ces questions, l'idéal serait de suivre les processus d'adaptation dans les populations naturelles. Cependant, comme évoqué précédemment, il est nécessaire de commencer par une étape intermédiaire d'évolution expérimentale où les forces évolutives sont contrôlées afin de caractériser les patrons d'adaptation de manière rigoureuse.

4. *Drosophila suzukii* comme modèle biologique

4.1 Une espèce envahissante généraliste

La mouche à ailes tachetées ("*spotted wing drosophila*"), *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) est un insecte de la famille des Drosophilidae. Son nom vernaculaire provient d'une caractéristique morphologique observable chez les mâles. Contrairement à la plupart des autres espèces de drosophiles, les mâles sont identifiables par la présence d'une tâche de mélanine sur chacune de leurs ailes. Pour que l'identification soit fiable, il faut également observer la présence de deux peignes sur les deux premiers tarses de leurs pattes antérieures (Hauser, 2011). Les femelles sont, identifiables grâce à leur ovipositeur surdéveloppé et sclérifié (Atallah et al., 2014, Fig. 11).

4.1.1 Une espèce envahissante

Drosophila suzukii est une espèce envahissante originaire d'Asie, avec une large distribution native recouvrant une grande partie de la Chine, les pays continentaux frontaliers et le Japon (Asplen et al., 2015; Ometto et al., 2013). Dans les années 1980, elle est observée hors de son aire de répartition native pour la première fois, à Hawaii



Figure 11 – Femelle *D. suzukii* en situation de ponte sur une framboise (*Rubus sp.*). Copyright : Vincent Débat et Yann Le Poul.

(Kaneshiro, 1983). Par la suite, elle est observée en 2008, pour la première fois et de manière simultanée dans le sud de l'Europe (région de Barcelone, Espagne) et dans le nord de l'Amérique (état de Californie). Dès 2009, l'espèce a rapidement envahi les États-Unis et l'Europe (Hauser, 2011; Calabria et al., 2012). De nos jours, elle est présente dans la majorité du continent nord-américain et européen, mais également dans certaines régions de l'hémisphère sud comme au Brésil (Deprá et al., 2014) ou à l'île de La Réunion (Fraimout et al., 2017). De par son caractère mondial, l'invasion de *D. suzukii* est donc probablement un exemple d'adaptation dans différents environnements.

La reconstruction des routes d'invasion à partir de données microsatellites montre que les populations introduites ont traversé des goulots d'étranglement au cours de l'invasion (Fraimout et al., 2017). Malgré une diminution notable de la variabilité génétique (perte de 18,7% de l'hétérozygotie et de 15,5% de la diversité alléliques, en moyenne), cette diminution reste modeste et le niveau de diversité dans les populations envahissantes demeure élevé. Ceci peut s'expliquer par des tailles de propagules importantes et différents événements de mélanges révélés par les analyses de Fraimout et al. (2017). Au cours de l'invasion, au moins cinq événements d'admixture ont eu lieu (Fig. 12). La variabilité génétique maintenue au cours de cette invasion est de prime abord compatible avec des processus d'adaptation locale des populations à leur environnement.

De plus, la reconstruction des routes d'invasions a prouvé que les introductions en Europe et en Amérique du Nord étaient globalement indépendantes (Fraimout et al., 2017, Fig. 12) et correspondent donc à une réplification du processus invasif, une spécificité cruciale pour l'étude des processus évolutifs agissant au cours de l'invasion de nouveaux environnements.

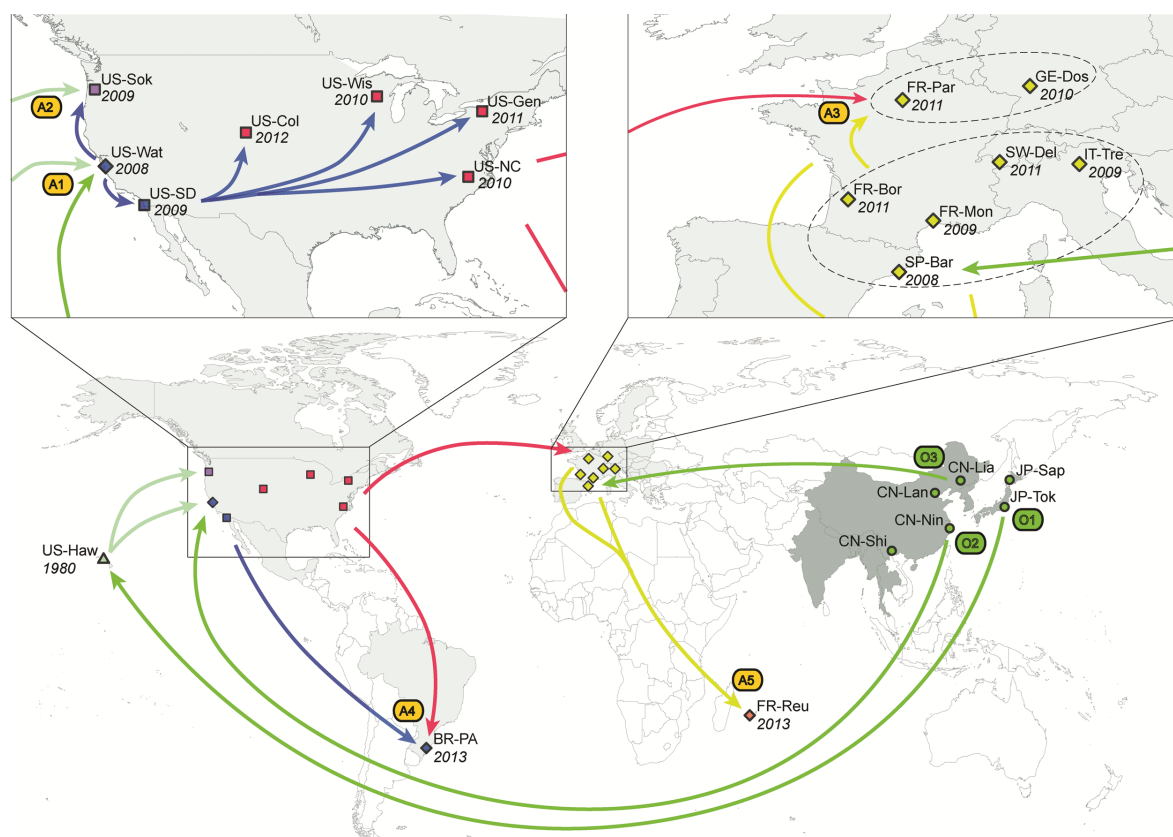


Figure 12 – Scénario d'invasion mondiale déduit de données microsatellites et date de la première observation. Carte et schéma montrant les routes d'invasion empruntées par *D. suzukii*, reconstituées par ABC-RF (Fraimout et al., 2017). Les flèches indiquent les voies d'invasion les plus probables. L'aire d'origine est en gris foncé et l'aire envahie en gris clair. L'année au cours de laquelle *D. suzukii* a été observée pour la première fois sur chaque site d'échantillonnage est indiquée en italique. Les carrés, losanges, triangles correspondent aux populations ayant subi des goulots d'étranglements d'intensité respectivement faible, modérée et fort. A1-5 = évènements d'admixture génétique. O1-3 : origines géographiques probables des introductions primaires à partir de l'aire native. Illustration issue de Fraimout et al. (2017).

Enfin, *D. suzukii* n'est pas seulement une espèce envahissante se propageant mondialement et rapidement. C'est également un redoutable ravageur de culture attaquant une large gamme d'hôtes (Lee et al., 2011c) ce qui en fait une espèce d'intérêt agronomique majeur.

4.1.2 Une espèce généraliste

Drosophila suzukii possède un ovipositeur particulièrement développé, possédant des dents sclérifiées (Atallah et al., 2014; Hauser, 2011). Cet organe lui permet de percer la peau de fruits sains pour y pondre ses œufs (Mitsui et al., 2006). Cette espèce est considérée comme une espèce généraliste car elle pond ses œufs dans une large gamme d'hôtes (Lee et al., 2011d). Plus précisément, une récente étude a mis en évidence que *D. suzukii* est capable de réaliser son cycle (en laboratoire) sur 84 espèces de plantes de 19 familles différentes (Kenis et al., 2016). Ces résultats sont confirmés par les travaux de Poyet et al. (2015) où le développement a été possible dans 33 espèces de plantes

différentes. Cette espèce a par ailleurs été observée, *in natura*, sur une vaste gamme de fruits cultivés : cerise, fraise, framboise, mûre, myrtille, figue, groseille, abricot, pêche, raisin, kiwi, kaki, pomme, prune, etc. Certains fruits sauvages peuvent également être hôtes comme le sureau, l'arboise et le raisin d'Amérique (Cini et al., 2012). En Asie, il semblerait que cerise, pêche, prune et fraise soient des hôtes privilégiés, mais son comportement opportuniste lui permet de se développer sur d'autres types de fruits (Kanzawa, 1939, 1936). Néanmoins, les informations concernant la gamme d'hôtes utilisées dans son aire native restent lacunaires. En Europe et en Amérique, les fruits rouges comme les framboises, les cerises, les fraises, les mûres et les myrtilles sont des hôtes privilégiés (Lee et al., 2011c).

Contrairement aux autres espèces de drosophiles pondant sur des fruits en décomposition (Sasaki and Sato, 1995), *D. suzukii* attaque des fruits mûrs et sains (Mitsui et al., 2006), la classant au rang de ravageur de culture (Walsh et al., 2011). Le développement des larves à l'intérieur des fruits frais, entraîne leur détérioration. En plus de ces effets directs, les plaies créées facilitent le développement d'autres micro-organismes, comme par exemple les bactéries du genre *Acetobacter*, responsable de la pourriture acide dans les vignes (Ioriatti et al., 2015), contribuant à la détérioration du fruit (Calabria et al., 2012). Les dégâts causés par une attaque de *D. suzukii* peuvent provoquer une perte de la totalité de la production. Ainsi, des dégâts importants sont observés dans de nombreuses cultures de fruits à hautes valeurs agronomiques. Par exemple les cerisaies de la région des Coteaux du Lyonnais, les pertes liées à la présence de ce ravageur en 2016, ont été estimées à 1,8 million d'euros sur 8 millions de chiffre d'affaires total (communication personnelle, Aline Fons, Coopérative Sicoly). Depuis 2011, cette espèce est classée sur la liste A2 de l'Organisation Européenne et méditerranéenne de Protection des Plantes (OEPP), et dont la régulation devient un enjeu prioritaire.

Dans son aire envahie, *D. suzukii* est considérée comme une espèce généraliste. Les fruits utilisés comme hôtes sont disponibles pendant une certaine période de l'année. Le développement durant plusieurs générations sur les mêmes hôtes, peut potentiellement permettre une spécialisation, au moins transitoire, sur ce fruit. Cependant, tous les hôtes ne sont pas disponibles toute l'année (variabilité temporelle de l'environnement) et ne sont pas disponibles dans toutes les localités (variabilité spatiale de l'environnement). La structuration complexe du paysage dans lequel évolue *D. suzukii* en fait un modèle biologique idéal pour étudier l'évolution d'adaptation locale en environnement hétérogène.

4.2 De l'intérêt à utiliser *D. suzukii* comme modèle biologique en évolution

4.2.1 Aspects fondamentaux

Dans le cadre des invasions biologiques, la perte modérée de diversité au cours de son invasion mondiale ainsi que les réplicats évolutifs associés à l'histoire de l'invasion sont idéaux pour mieux comprendre les invasions biologiques. En effet, ils peuvent être utiles pour comprendre le succès de son invasion en identifiant des gènes, et potentiellement des caractères, impliqués dans celui-ci. Concernant la spécialisation à la plante hôte, s'intéresser à *D. suzukii* apporte un exemple *in natura* de populations en cours d'évolution dans un environnement hétérogène d'un point de vue de la disponibilité en hôtes, que ce soit spatialement ou temporellement.

Si étudier *D. suzukii* permet de répondre à différentes lacunes théoriques sur l'adaptation locale à différents environnements, cela permet également de répondre d'apporter des éléments de réponses à certains problèmes agronomiques générés par cette espèce.

4.2.2 Aspects appliqués

Comme vu précédemment, *D. suzukii* est un ravageur de culture, pour lequel il est crucial de connaître finement son utilisation de l'hôte dans l'aire envahie (Walsh et al., 2011). L'application d'insecticides est couramment utilisée comme méthode de lutte, même si son efficacité reste limitée (Rota-Stabelli et al., 2013; Cini et al., 2012). D'autres méthodes, comme l'utilisation de parasitoïde en lutte biologique ou la technique de l'insecte stérile, sont en cours de développement (Nikolouli et al., 2018; Daane et al., 2016; Chabert et al., 2012; Kremmer et al., 2017). Ces méthodes plus ciblées nécessitent des connaissances fines concernant l'utilisation des hôtes de *D. suzukii*. Au vu du succès de son invasion dans le monde entier, il est nécessaire de prendre en compte le potentiel évolutif de cette espèce. Considérer l'hétérogénéité dans le temps et dans l'espace des fruits hôtes, ainsi que la réponse des organismes à cette hétérogénéité, semblent primordial pour mieux comprendre et anticiper les dégâts que cette espèce peut causer dans les cultures. Par exemple, un niveau élevé de spécialisation limite les risques de contamination entre parcelles de cultures différentes, mais peut mener à des dégâts encore plus importants (et croissants au cours des générations) dans des zones de monoculture. La mise en évidence d'une possibilité de spécialisation des populations transitoire permettra de rationaliser la mise en place de traitements préventifs ou de justifier le recours à des cultures associées (plus précoces).

4.2.3 Aspects méthodologiques

En plus de son intérêt scientifique (fondamental et appliqué), la proximité phylogénétique de *D. suzukii* avec l'espèce sœur modèle *Drosophila melanogaster* offre de nombreux avantages méthodologiques (Roberts, 2018). Durant près d'un siècle, de nombreuses études ont défini des bases solides sur les caractéristiques biologiques de *D. melanogaster* (Bellen et al., 2010). Les connaissances expérimentales et moléculaires sont de ce fait particulièrement solides dans cette dernière espèce.

D'un point de vue expérimental, les milliers d'expériences réalisées avec *D. melanogaster* ont permis de développer des protocoles généralisables à toutes les espèces de drosophiles. Même si l'élevage de *D. suzukii* est plus complexe que celui de *D. melanogaster*, ces deux espèces partagent des caractéristiques biologiques communes, comme le cycle de vie court et un encombrement réduit permettant l'élevage de populations de grande taille.

D'un point de vue moléculaire, *D. melanogaster* dispose de nombreuses ressources génomiques, notamment concernant l'annotation de gènes, susceptibles de faciliter grandement l'interprétation de résultats de génomique obtenus chez *D. suzukii* (Groen and Whiteman, 2016).

5. Questions et objectifs de cette thèse

L'objectif général de cette thèse est de mieux comprendre les processus évolutifs impliqués dans l'évolution des organismes au sein et entre les populations dans un environnement hétérogène. Plus précisément j'ai étudié des processus sélectifs et les patrons d'adaptations de *D. suzukii* dans différents environnements, au cours de son invasion biologique ou liés à son utilisation des plantes hôtes. Au cours de cette thèse, l'adaptation des organismes a été étudiée à plusieurs échelles de variations spatiales et temporelles. Les méthodes évoquées précédemment, notamment génomiques (analyse d'association) et expérimentales (évolution expérimentale et transplantations réciproques), ont été utilisées pour comprendre les processus évolutifs et la réponse des organismes à des environnements hétérogènes. Au cours de la thèse, l'influence de l'adaptation dans le succès d'invasion et la spécialisation à la plante hôte, a été étudiée de manière indépendante.

Cette thèse est structurée en trois chapitres, incluant quatre manuscrits. Dans un premier temps (Chapitre 1), je présenterai les résultats d'une étude sur les processus évolutifs influençant l'évolution des populations à large échelle de temps et d'espace. Je me suis en effet intéressée à l'adaptation des populations de *D. suzukii* au cours de son invasion (**Manuscrit A**). Dans ce cas, l'évolution des organismes est donc étudiée sur plusieurs centaines de générations et à l'échelle mondiale. Les connaissances concernant les processus et caractères adaptatifs impliqués dans le succès de son invasion étant

faibles, je me suis intéressée aux gènes impliqués globalement dans son succès évolutif. J'ai utilisé pour cela une méthode indirecte de génomique des populations permettant de décrire la réponse des génomes de *D. suzukii* au cours de l'invasion. Appréhender cette question avec des analyses d'associations entre les variations génomiques et le statut invasif des populations (*i.e.*, en contrastant les différenciation génétique entre les populations natives et envahissantes) permet d'identifier des gènes clés potentiellement impliqués dans le succès de l'invasion. L'annotation de gènes candidats permet alors de proposer des caractères potentiellement responsables du succès de l'invasion.

Dans un second temps (Chapitre 2), je présenterai les études où j'ai ciblé un caractère candidat potentiel : l'utilisation de la plante hôte. Tester une spécialisation possible à la plante hôte, permet d'étudier l'adaptation locale des populations à une échelle plus fine. Dans cette partie, je me suis intéressée au changement évolutif pouvant survenir en quelques dizaines de générations suite à un changement d'environnement (ici l'hôte). J'ai cherché à savoir si dans ce contexte, une espèce considérée comme généraliste pouvait se spécialiser. Pour observer une réponse aux pressions de sélection, il est nécessaire que les populations soient variables pour ce caractère (utilisation de la plante hôte). J'ai donc commencé par étudier les caractères impliqués dans l'utilisation de la plante hôte : la préférence de ponte et la performance sur différents fruits correspondant à différents environnements (**Manuscrit B**). Après avoir confirmé la variabilité entre environnements de ces caractères, j'ai déterminé si ces mêmes caractères pouvaient évoluer en réponse à une pression de sélection induite, lorsque la population étudiée n'était pas initialement à l'équilibre pour ce caractère (**Manuscrit C**). Ainsi, après plus de 25 générations passées au laboratoire sur le même fruit (évolution expérimentale), j'ai testé si des compromis de valeur sélective avaient évolué entre environnements. Les résultats observés dans cette partie permettent de déterminer le potentiel adaptatif de *D. suzukii* et l'évolution potentielle de son degré de spécialisation en conditions contrôlées.

Dans un troisième temps (Chapitre 3), je présenterai une étude sur l'adaptation à la plante hôte à une échelle de variation encore plus fine, en conditions naturelles (**Manuscrit D**). Comme évoqué précédemment, la réponse des organismes face à un environnement homogène (fruit) pendant plusieurs dizaines de générations a été testée dans un cadre contrôlé d'évolution expérimentale. Dans la nature, les plantes hôtes ne sont disponibles que pendant quelques générations. L'environnement est hétérogène spatialement et temporellement. Il est par conséquent intéressant de savoir si une adaptation locale peut évoluer, au moins transitoirement, dans un environnement hétérogène complexe comme celui-ci. Réaliser des expériences de transplantations réciproques entre populations provenant de différents fruits prélevés *in natura* a ainsi permis de tester le degré de spécialisation de *D. suzukii* dans la nature. Considérer l'hétérogénéité de l'environnement et l'évolution des organismes face à cette hétérogénéité permet de

détecter des signes potentiels de spécialisation et de préciser le statut d'une espèce le long du continuum spécialiste-généraliste.

Chapitre 1

Bases génomiques des adaptations associées au succès de l'invasion mondiale de *D. suzukii*

Avec deux voies d'invasions séparées (une voie « américaine » et une voie « européenne ») et une perte globalement modeste de la diversité génétique, *D. suzukii* présente une histoire évolutive contemporaine attrayante pour tenter de mieux comprendre les bases génétiques des processus adaptatifs impliqués dans le succès d'une invasion se déroulant à une grande échelle géographique (*i.e.*, à l'échelle mondiale). L'objectif des recherches présentées dans ce chapitre est de caractériser les différences génomiques entre les populations envahissantes et natives de *D. suzukii* dans le but d'identifier des gènes, et par extension des caractères candidats, associés au succès d'invasion de cette espèce.

Pour ce faire, je me suis formée auprès de mes directeurs de thèses à la génomique des populations et plus particulièrement aux méthodes implémentées dans le programme informatique BayPass (Gautier, 2015) qui représente une base méthodologique forte pour caractériser les bases génomiques de l'adaptation à de nouveaux contextes écologiques. Afin de détecter des signatures de sélection entre populations natives et envahissantes, j'ai réalisé des analyses d'associations en me basant sur le séquençage de mélanges (ou pools) d'ADN individuels (de $n=50$ à $n=100$ selon les pools) issus de 22 populations de *D. suzukii*, représentatives de la diversité génétique mondiale actuelle de l'espèce dans son aire native et son aire envahie. Nous avons utilisé les ressources génomiques disponibles chez l'espèce sœur *D. melanogaster* afin de réaliser une annotation des variants (*i.e.*, SNPs) associés au statut invasif et natif des populations et tenter une première interprétation fonctionnelle et phénotypique des signaux obtenus par notre méthode.

L'avantage majeur de notre approche est qu'elle ne nécessite pas une caractérisation phénotypique préliminaire souvent extrêmement laborieuse des populations considérées (ex. : via des expériences en jardin commun) afin de proposer des caractères candidats pour lesquels des associations génomiques sont recherchées. En effet, dans notre étude d'association, les populations analysées ont juste été classées en deux catégories :

envahissantes et natives. Notons que l'interprétation fonctionnelle et phénotypique des signaux obtenus par nos méthodes de balayage génomique reste difficile. Une telle interprétation nécessite une bonne caractérisation fonctionnelle du génome de l'espèce étudiée ou, à défaut, d'une espèce apparentée (*D. melanogaster* dans notre étude).

Il est important de souligner que, par extension, ce type d'approche offre la possibilité, en s'appuyant sur les annotations phénotypiques disponibles pour certains gènes ou sur des méthodes indirectes de biologie des systèmes, de caractériser des voies physiologiques associées aux capacités adaptatives des populations dans leur environnement (ex. : Frachon et al., 2018; Gautier et al., 2016). Dès lors, des phénotypes importants pour l'adaptation locale des populations (ici au cours du processus d'invasion) peuvent être identifiés comme candidats et étudiés, suivant ainsi une approche qualifiée d'écologie inversée (Li et al., 2008), puisqu'elle va du gène au phénotype. Notre approche de caractérisation des bases génétiques des processus adaptatifs impliqués dans le succès d'une invasion est générique, dans le sens où elle peut être transposée à n'importe quelle autre espèce envahissante, et plus généralement à n'importe quel modèle d'espèce pour lequel des traits binaires présentant un intérêt peuvent être définis au niveau populationnel. Les résultats de notre étude de génomique des populations mondiales natives et envahissantes de *D. suzukii* sont présentés en détails sous la forme d'un manuscrit intitulé « *A whole-genome scan for association with invasive success in the fruit fly Drosophila suzukii using contrasts of allele frequencies corrected for population structure* », en préparation pour la revue « *Molecular Biology and Evolution* ».

A whole-genome scan for association with invasive success in the fruit fly *Drosophila suzukii* using contrasts of allele frequencies corrected for population structure

Laure Olazcuaga¹, Anne Loiseau¹, Hugues Parrinello², Mathilde Paris³, Antoine Fraimout¹, Christelle Guedot⁴, Lauren M. Diepenbrock⁵, Marc Kenis⁶, Jinping Zhang⁷, Xiao Chen⁸, Nicolas Borowieck⁹, Benoit Facon¹⁰, Heidrun Vogt¹¹, Donald K. Price¹², Heiko Vogel¹³, Benjamin Prud'homme³, Arnaud Estoup^{1,14,15}, and Mathieu Gautier^{1,14,15}

Authors affiliation:

¹ INRA, UMR CBGP (INRA – IRD – Cirad – Montpellier SupAgro), Montferrier-sur-Lez, France

² MGX, Biocampus Montpellier, CNRS, INSERM, Université de Montpellier, Montpellier, France

³ Aix Marseille Université, CNRS, IBDM, Marseille, France

⁴ Department of Entomology, University of Wisconsin, Madison, WI

⁵ Department of Entomology and Plant Pathology, NC State University

⁶ CABI, Delémont, Switzerland

⁷ MoA-CABI Joint Laboratory for Bio-safety, Chinese Academy of Agricultural Sciences, BeiXiaGuan, Haidian Qu, China

⁸ College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, Yunnan Province, China

⁹ UMR INRA-CNRS-Université Côte d'Azur Sophia Agrobiotech Institute, Sophia Antipolis, France

¹⁰ UMR Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical, INRA, Saint-Pierre, La Réunion, France

¹¹ Julius Kühn-Institut (JKI), Federal Research Centre for Cultivated Plants, Institute for Plant Protection in Fruit Crops and Viticulture, Dossenheim, Germany

¹² School of Life Sciences, University of Nevada, Las Vegas, Las Vegas, NV

¹³ Department of Entomology, Max Planck Institute for Chemical Ecology, Jena, Germany

¹⁴ These authors are joint senior authors on this work

¹⁵ Corresponding author: mathieu.gautier@inra.fr and arnaud.estoup@inra.fr

Abstract

Evidence is accumulating that evolutionary changes are not only common during biological invasions but also that they might contribute directly to invasion success. The genomic basis of such changes is still largely unexplored. Here we characterized the genome response of the spotted wing drosophila *Drosophila suzukii* during the worldwide invasion of this pest insect species, by conducting a genome-wide association study to find genes involved in adaptive processes during invasion. Genomic data from 22 population samples were analyzed to detect the association of genetic variants with the invasive (*vs.* native) status of the sampled populations based on a newly developed statistics, we called C_2 , that contrast allele frequencies corrected for population structure. This new statistical framework has been implemented in an upgraded version of the program BAYPASS. We identified a relatively small set of single nucleotide polymorphisms showing a highly significant association with the invasive status of populations. The most consistent association signals, common to the two separate main invasion roads of *D. suzukii*, point to genetic variation in the couch potato gene (*cpo*). Variation in the gene *cpo* was previously known to contribute to natural variation in diapause and numerous correlated life-history traits in *Drosophila melanogaster*. Our methodological approaches can be transposed to any other invasive species, and more generally to any species models characterized by non-equilibrium demographic conditions for which binary traits of interest can be defined at the population level. Understanding the genomic response to invasion will help predicting the conditions under which invasiveness can be enhanced or suppressed.

Key words: Biological invasion; Drosophila suzukii; GWAS; BAYPASS; Pool-Seq

Manuscript A - Table of contents

1.	Introduction	54
2.	New Approach	56
3.	Results	58
3.1	Simulation-based evaluation of the performance of our novel statistical framework	58
3.2	Genome-wide scan for association with invasive success in <i>D. suzukii</i>	61
3.3	Annotation of candidate SNPs	64
4.	Discussion	66
4.1	Identification of a small set of SNPs associated with invasive success	67
4.2	<i>Cpo</i> as a strong candidate gene involved in invasion success	68
4.3	Methodological contributions	69
5.	Conclusions and perspectives	71
6.	Material and Methods	72
6.1	Simulation study	72
6.2	Sampling of <i>D. suzukii</i> populations and DNA extraction	73
6.3	Pool sequencing	73
6.4	Genome scan analyses	74
7.	Acknowledgments	76
	Supplementary materials	77

1. Introduction

Managing and controlling introduced species require an understanding of the ecological and evolutionary processes that underlie invasions. Biological invasions are also of academic interest because they constitute natural experiments that allow investigating evolutionary processes on contemporary timescales. Colonizers are known to experience differences in biotic interactions, climate, availability of resources, and disturbance regimes relative to their source regions, often with opportunities to evolve changes in resource allocation which favor their success (Balanya, 2006; Dlugosch et al., 2015; Lee and Gelembiuk, 2008). Adaptive evolutionary shifts in response to novel selection regimes may therefore be central to initial establishment and spread after colonization (Colautti and Barrett, 2013; Colautti and Lau, 2015). In agreement with this, experimental evidence is accumulating that evolutionary changes are not only common during invasion but also that they may contribute directly to invasion success (Williams et al., 2016; Ochocki and Miller, 2017; Facon et al., 2011; Ellstrand and Schierenbeck, 2000; Lee, 2002; Colautti and Lau, 2015; Bock et al., 2015). However, despite an increase in theoretical and empirical studies on the evolutionary biology of invasive species in the past decade, the genetic basis of evolutionary adaptations during invasions is still largely unexplored (Barrett, 2015; Welles and Dlugosch, 2019; Reznick et al., 2019).

The spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*, represents an attractive biological model to study invasive processes. This pest species is native from South East Asia and has simultaneously started to invade, in 2008, North America and Europe. It has since colonized La Réunion Island (Indian Ocean), and South America. Contrary to most *Drosophilids*, this species lays eggs in unripe fruits thanks to its sclerotized ovipositor. It thereby causes dramatic losses for fruit production, with a yearly cost exceeding one billion euros worldwide (e.g., Cini et al., 2012; Asplen et al., 2015). The rapid dissemination of *D. suzukii* in America and Europe demonstrates its remarkable ability to adapt or acclimate to new environments and host plants. Using evolutionary neutral molecular markers, Adrion et al. (2014) and Fraimout et al. (2017) finely deciphered the routes taken by *D. suzukii* in its invasion worldwide. Interestingly, both studies have shown that North American (plus Brazil) and European (plus La Réunion Island) populations globally represent separate invasion roads, with different native source populations and multiple introduction events in both invaded regions (Fraimout et al., 2017). These two major and separate invasion pathways provide the opportunity to evaluate evolutionary trajectories in replicate. Finally, *D. suzukii* is a good model species for finely interpreting genomic signals of interest due to the availability of genome assemblies for this species (Paris et al, in prep.; Chiu et al., 2013; Ometto et al., 2013) along with the large amount of genomic and gene annotation resources available in its closely related model species *D. melanogaster*

(Hoskins et al., 2015).

In this context, advances in high-throughput sequencing technologies together with population genomics statistical methods offer novel opportunities to disentangle responses to selection from other forms of evolution, thereby providing insights into the genomic changes that might have contributed to the success in a new environment (reviewed in Welles and Dlugosch, 2019; Bock et al., 2015). Characterizing the structuring of genetic diversity on a whole genome scale among invasive populations and their source populations might allow the identification of candidate loci for adaptation during invasion of new areas, generating insights into the types of genetic variation involved and their potential ecological functions. For example, Puzey and Vallejo-Marin (2014) used whole genome resequencing data to scan for shifts in site frequency spectrums to detect positive selection in introduced populations of monkey-flower (*Mimulus guttatus*). Regions putatively under selection were associated with flowering time and abiotic and biotic stress tolerance and included regions associated with a chromosomal inversion polymorphism between the native and introduced range.

Identifying loci underlying invasive success can be considered in the context of whole-genome scan for association with population-specific covariate, also known as Environmental Association Analysis (EAA), that have received considerable attention in recent years (*e.g.*, Coop et al., 2010; de Villemereuil and Gaggiotti, 2015; Frichot et al., 2013; Gautier, 2015). Most of the methodological developments focused in properly accounting for the neutral structuring of the genetic diversity among the populations that is due to their shared demographic history and may confound the relationship between the across population variation in allele frequencies and the covariates of interest (Coop et al., 2010; Frichot et al., 2013, 2015; Gautier, 2015). Yet, defining relevant environmental characteristics or traits as proxy for invasive success remain challenging and might actually be viewed as part of the question of interest. We thus here propose to simply summarize invasive success into a binary variable corresponding to the population historical status (*i.e.*, invasive or native) assumed to be known from previous studies. By extension, functional annotation of the associated variants identified may provide insights into candidate traits underlying invasive success (Li et al., 2008; Estoup et al., 2016).

The Bayesian hierarchical model initially proposed by Coop et al. (2010), later extended in Gautier (2015) and implemented in the software BAYPASS, represents one of the most flexible and powerful framework to carry out EAA since it efficiently accounts for the correlation structure among allele frequencies in the sampled populations. Although association analysis may also be carried out with categorical or binary variables (see the example of *Littorina* population ecotypes in Gautier, 2015), the assumed linear relationship with allele frequencies is not entirely satisfactory and may even be problematic when

dealing with small data sets or if one wishes to disregard some populations.

In the present study, we developed a non-parametric counterpart for the association model implemented in BAYPASS by relying on a contrast statistic, we named C_2 , that compares the standardized population allele frequencies (*i.e.*, the allele frequencies corrected for the population structure) between the two groups of populations specified by the binary covariable of interest. We evaluated the performance of this statistic on simulated data and used it to characterize the genome response of *D. sukukii* during its worldwide invasion. To that end, we generated Pool-Seq data (*e.g.*, Schlotterer et al., 2014; Gautier et al., 2013) consisting of whole-genome sequences of pools of individual DNA (from $n=50$ to $n=100$ individuals per pool) representative of 22 worldwide populations sampled in both the invasive ($n=16$ populations) and native ($n=6$ populations) ranges of the species. We then estimated the C_2 statistics associated to the invasive *vs.* native status of the populations on a worldwide scale or considering separately each of the two invasive roads (European and American) as characterized by Fraimout et al. (2017). Our aim was to identify genomic regions and genes involved in adaptive processes favoring the invasion success of *D. sukukii*.

2. New Approach

To identify single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with a population-specific binary traits (as the invasive *vs.* native status of *D. sukukii* populations), we developed a new statistic, we called C_2 . The C_2 statistic was designed to contrast SNP allele frequencies between the two groups of populations specified by the binary trait while accounting for the possibly complex evolutionary history that relates the different populations. Indeed, the shared population history is a major (neutral) contributor to allele frequency differentiation across populations (*e.g.*, Bonhomme et al., 2010; Gunther and Coop, 2013) that may confound association signals (*e.g.*, Coop et al., 2010; Gautier, 2015).

We here relied on the multivariate normal approximation introduced by Coop et al. (2010) and further extended by Gautier (2015) to model population allele frequencies and to define the C_2 contrast statistic. More precisely, consider a sample made of J populations (each with a label $j = 1, \dots, J$) that have been characterized for I bi-allelic SNP (each with a label $i = 1, \dots, I$), with the reference allele arbitrarily defined (*e.g.*, by randomly drawing the ancestral or the derived state). Let α_{ij} represent the (unobserved) allele frequency of the reference allele at SNP i in population j . As previously defined and discussed (Coop et al., 2010; Gautier, 2015), we introduced an instrumental allele frequency α_{ij}^* (for each SNP i and population j) taking value on the real line such that $\alpha_{ij}^* = \min(1, \max(0, \alpha_{ij}))$.

Following Coop et al. (2010) and Gautier (2015), a multivariate Gaussian (prior)

distribution of the vector $\alpha_i^* = \{\alpha_{ij}^*\}_{1 \dots J}$ is then assumed for each SNP i :

$$\alpha_i^* \mid \mathbf{A}, \pi_i \sim N_J(\pi_i \mathbf{1}_J; \pi_i(1 - \pi_i) \mathbf{\Omega}) \quad (1)$$

where $\mathbf{1}_J$ is a all-one vector of length J ; $\mathbf{\Omega}$ is the (scaled) covariance matrix of the population allele frequencies which captures information about their shared demographic history; and π_i is the weighted mean frequency of the SNP i reference allele. If $\mathbf{\Omega}$ is used to build a tree or an admixture graph (Pickrell and Pritchard, 2012), π_i corresponds to the root allele frequency. We further define for each SNP i the vector $\check{\alpha}_i$ of standardized (instrumental) allele frequencies in the J populations as:

$$\check{\alpha}_i = \Gamma_{\Omega}^{-1} \left\{ \frac{\alpha_{ij} - \pi_i}{\sqrt{\pi_i(1 - \pi_i)}} \right\}_{(1 \dots J)} \quad (2)$$

where Γ_{Ω} results from the Cholesky decomposition of $\mathbf{\Omega}$, *i.e.*, $\mathbf{\Omega} = \Gamma_{\Omega}^t \Gamma_{\Omega}$. The vector $\check{\alpha}_i$ thus contains scaled allele frequencies that are corrected for both the population structure (summarized by $\mathbf{\Omega}$) and the across-population (*e.g.*, ancestral) allele frequency (π_i).

The C_2 contrast statistic is then simply defined as the mean squared difference of the sum of standardized allele frequencies of the two groups of populations defined according to the binary trait modalities:

$$C_2(i) = \frac{1}{\mathbf{c}^t \mathbf{c}} (\check{\alpha}_i^t \mathbf{c})^2 \quad (3)$$

where $\mathbf{c} = c_{j(1 \dots J)}$ is a vector of the trait values observed for each population j such that $c_j = 1$ (respectively $c_j = -1$) if population j displays the first (respectively second) trait modality. One may also define $c_j = 0$ to exclude a given population j from the comparison.

According to our model, the J elements of $\check{\alpha}_i$ are independent and identically distributed as a standard Gaussian distribution under the null hypothesis of only neutral marker differentiation. The C_2 statistics is thus expected to follow a χ^2 distribution with one degree of freedom.

The estimation of the C_2 statistic was here performed under the hierarchical Bayesian model implemented using a Markov-Chain Monte Carlo (MCMC) algorithm in the BAYPASS software (Gautier, 2015). However, such a multi-level modeling approach shrinks the estimated posterior means of the C_2 toward their prior means, as already noticed in Gautier (2015) for the estimation of the SNP-specific XtX differentiation statistic defined as $XtX = \check{\alpha}_i^t \check{\alpha}_i$ (Gunther and Coop, 2013). To ensure proper calibration of both the C_2 and XtX estimates we thus relied on the scaled posterior means of the $\check{\alpha}_{ij}$'s,

denoted $\hat{\underline{\alpha}}$ and computed as:

$$\hat{\underline{\alpha}}_i = \left\{ \frac{\hat{\alpha}_{ij} - \mu_{\hat{\alpha}}}{\sigma_{\hat{\alpha}}} \right\}_{(1 \dots J)} \quad (4)$$

where $\hat{\alpha}_{ij}$ is the posterior means of α_{ij} and $\mu_{\hat{\alpha}}$ (respectively $\sigma_{\hat{\alpha}}$) is the mean (respectively standard deviation) of the $I \times J$ $\hat{\alpha}_{ij}$'s ($\mu_{\hat{\alpha}} \approx 0$ usually). The following estimators of XtX and C_2 , denoted for each SNP i as $\widehat{XtX^*}(i)$ and $\widehat{C_2}(i)$ respectively, were then obtained as:

$$\begin{aligned} \widehat{XtX^*}(i) &= \hat{\underline{\alpha}}_i^t \hat{\underline{\alpha}}_i \\ \widehat{C_2}(i) &= \frac{1}{c^t c} (\hat{\underline{\alpha}}_i^t c)^2 \end{aligned} \quad (5)$$

Under the null hypothesis, $\widehat{XtX^*}(i) \sim \chi_1^2$ and $\widehat{C_2}(i) \sim \chi_1^2$ allowing one to rely on standard decision making procedures, *e.g.*, based on p-values or more preferably on q-values to control for multiple-testing issues (Storey and Tibshirani, 2003).

3. Results

3.1 Simulation-based evaluation of the performance of our novel statistical framework

To evaluate the performances of the C_2 contrast statistic for the identification of SNP associated with binary population-specific covariables, we simulated 100 data sets under the evolutionary scenario depicted in Figure 1A. Each simulated data sets consisted of 5,000 SNPs genotyped for 320 individuals belonging to 16 differentiated populations subjected to two different contrasting environmental constraints, denoted *ec1* and *ec2* in Figure 1A. The *ec1* constraint was aimed at mimicking adaptation of eight pairs of geographically differentiated populations to two different ecotypes (*e.g.*, host plant) replicated in different geographic areas. Conversely, the *ec2* might be viewed as replicated local adaptive constraints with a first type *a* specifying a large native area with several geographically differentiated populations (here six), and a second type *b* specifying invasive areas with differentiated populations originating from various regions of the native area (*i.e.*, not related to the same extent to their contemporary native populations). It should be noticed that the two *ec1* types were evenly distributed in the population tree while for *ec2*, the type *b* was over-represented in 10 populations (Figure 1A). During the adaptive phase, the fitness of individuals in the environment of their population of origin was determined by their genotypes at 25 SNPs for *ec1* and 25 SNPs for *ec2* constraints (hereafter referred to as *ec1* and *ec2* selected SNPs, respectively). Overall, the realized F_{ST} (Weir and Cockerham, 1984) ranged from 0.110 to 0.122 (0.116 on average) across the data

sets, a level of differentiation similar to that observed in our worldwide *D. sukuzii* sample (see below).

We further estimated with BAYPASS (Gautier, 2015) the C_2 statistics for each *ec1* or *ec2* contrasting environmental constraints together with the corresponding Bayes Factors (BF) as an alternative measure of the support for association. For comparison purposes, we also estimated the SNP XtX differentiation statistics, using both the posterior mean estimator (Gautier, 2015) and the $\widehat{XtX}^*$ estimator described above. Note however that, as an overall (covariate-free) differentiation statistic, the XtX does not permit to distinguish outlier SNPs responding to the *ec1* constraint from those responding to the *ec2* constraint.

Based on the status of each simulated SNPs (*i.e.*, neutral, and *ec1* or *ec2* selected) and combining results in the 100 simulated data sets, standard receiver operating curves (ROCs) were computed (Grau et al., 2015) and plotted in Figure 1B (respectively 1C) for the six statistics. This allowed comparing for various thresholds covering their range of variation, the power to detect *ec1* (respectively *ec2*) selected SNPs (*i.e.*, the proportion of true positives among the corresponding selected SNPs) as a function of the false positive rates (FPR, *i.e.*, the proportion of positives among neutral SNPs). The C_2 statistics was found efficient to detect SNPs affected by *ec1* and *ec2* environmental constraints, the area under the ROC curve (AUC) being equal to 0.977 (Figure 1B) and 0.943 (Figure 1C), respectively. The unbalanced population representation of the two *ec2* types had thus a limited impact on the performance of the C_2 statistics to identify the underlying selected SNPs. In addition, the C_2 statistic allowed to clearly discriminate the selected SNPs according to their underlying environmental constraint. In other words, no selection signal was captured by the C_2 statistics computed for the *ec2* (respectively *ec1*) contrasts on *ec1* (respectively *ec2*) selected SNPs, resulting in ROC AUC close to the value of 0.5 obtained with a random classifier.

The ROC curves displayed in Figures 1B and 1C also revealed nearly identical performance of the C_2 statistics and the BF. Accordingly, the correlation between both statistics were fairly high (Pearson's r equal to 0.983 and 0.923 for *ec1* and *ec2*, respectively). Yet, one practical advantage of the C_2 statistic was its very good calibration with respect to the null hypothesis of no association, the corresponding p-values (assuming a χ^2 distribution with 1 degree of freedom) being close to uniform (Figure S1).

Similarly, the two XtX estimators were found highly correlated (Pearson's $r = 0.998$) with almost confounded ROC curves, but only the $\widehat{XtX}^*$ was properly calibrated (Figure S2). Their performances were however clearly worse than those obtained with the C_2 (and BF) statistics. This was in part explained by their inability to discriminate between the two types of selected SNPs, selected SNPs overly differentiated in *ec2* generating false positives in the identification of *ec1* SNPs (Figure 1B) and vice versa. Accordingly, ROC AUC in Figure 1B for the XtX were also smaller than in Figure 1C, *ec1* selected SNPs being

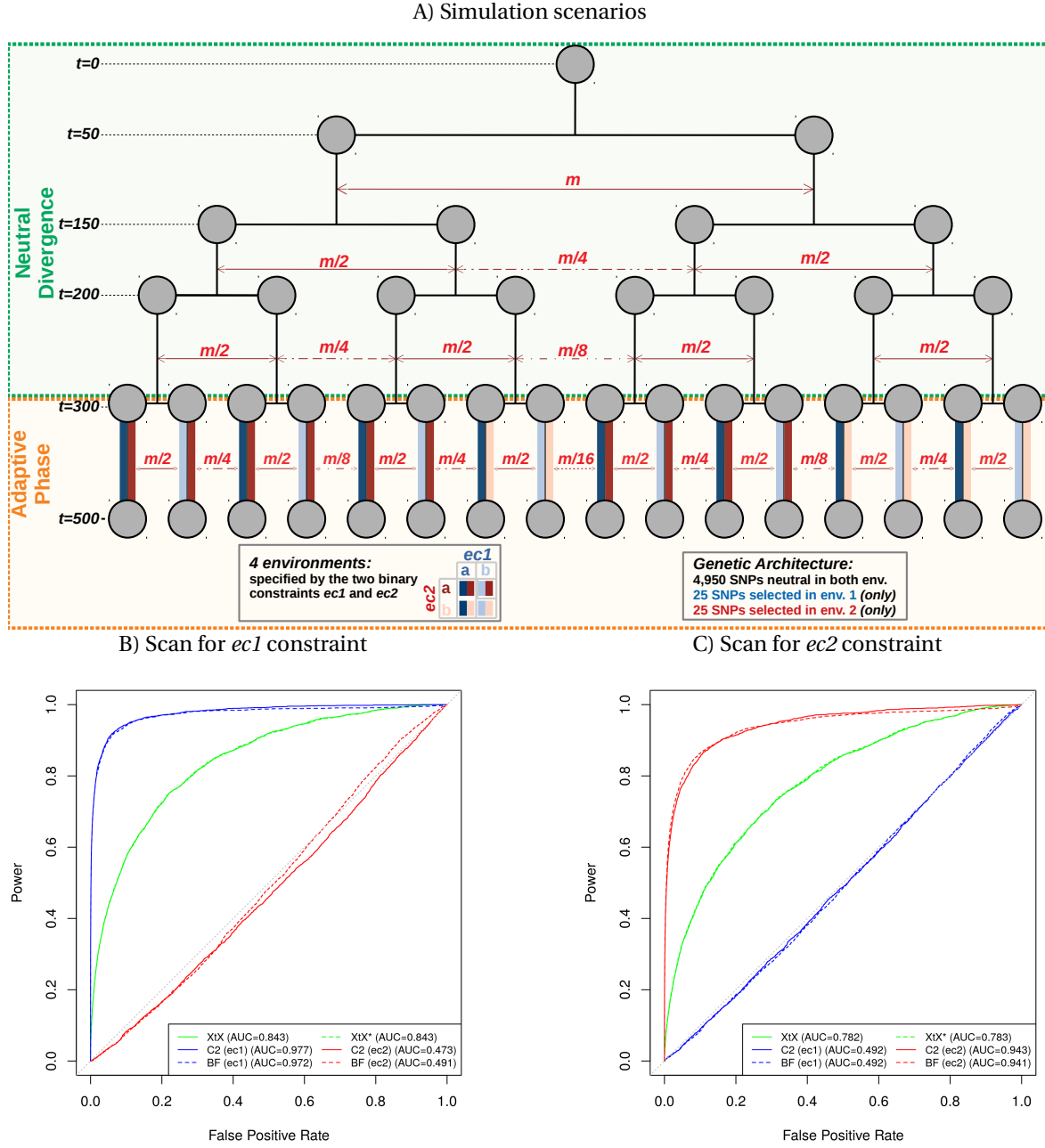


Figure 1 – Evaluation of the performance of the C_2 contrast statistics on simulated data and comparison with the BF for association and two XtX SNP-specific differentiation estimators. A) Schematic representation of the demographic scenario used for the simulation. It consists of two successive phases: (i) a neutral divergence phase with migration (only some illustrative migration combinations being represented) leading to the differentiation of an ancestral population into 16 populations after four successive fission events (at generations $t = 50$, $t = 150$, $t = 200$ and $t = 300$); and (ii) an adaptive phase (lasting 200 generations) during which individuals were subjected to selective pressures exerted by two environmental constraints (*ec1* and *ec2*) each having two possible modalities (*a* or *b*) according to their population of origin (*i.e.*, eight possible environments in total). Out of the 5,000 simulated SNPs, the fitness of individuals in the environment of their population of origin was determined by their genotypes at 25 SNPs for *ec1* and 25 SNPs for *ec2* constraints. In total 100 data sets were simulated. B) and C) The ROC curves associated to the *ec1* and *ec2* C_2 contrasts and the two corresponding BF for association are plotted together with those associated with the two XtX estimators (*i.e.*, posterior mean estimator XtX, and the new calibrated estimator XtX*). The FPR's associated to each statistic were obtained from the corresponding neutral SNP estimates combined over the 100 simulated data sets ($n = 4,950 \times 100 = 495,000$ values in total). Similarly, the TPR's were estimated from either the $n = 2,500$ combined *ec1* (B) or *ec2* (C) selected SNPs. The different ROC AUC are given between parentheses.

more differentiated than those in *ec2* due to the simulated design. Yet, the power of the XtX statistics to detect *ec1* or *ec2* selected SNPs remained substantially smaller than that of the corresponding C_2 contrast statistics. For instance, at the 1% p-value significance threshold, the power to detect *ec1* (respectively *ec2*) selected SNPs was equal to 72.6% (respectively 59.1%) with the C_2 statistics and only 17.1% (respectively 10.4%) with the $\widehat{XtX^*}$ estimator, even when considering for the latter, a unilateral test to only target overly differentiated SNPs. Note that, as expected from the good calibration of the $\widehat{XtX^*}$ statistics, similar results were obtained when considering empirical p-value thresholds computed from the distribution of the XtX statistics estimated from neutral SNPs.

3.2 Genome-wide scan for association with invasive success in *D. suzukii*

To identify genomic regions associated with the invasive success of *D. suzukii*, we carried out a genome scan, based on the C_2 statistics, to contrast the patterns of genetic diversity among 22 population originating from either the native (n=6 populations) or invaded areas (n=16 populations) (Figure 2A). To that end we sequenced pools of 50 to 100 individuals representative of each population (Table S1) and mapped the resulting sequencing reads onto the newly released WT3-2.0 *D. suzukii* genome assembly (Paris et al., in prep). These Pool-Seq data allowed the characterization of 11,564,472 autosomal and 1,966,184 X-linked SNPs segregating in the 22 populations that were sub-sampled into 154 autosomal and 26 X-linked data sets (of ca. 75,000 SNPs each) for further analyses.

The overall differentiation was estimated using the recently developed F_{ST} estimator for Pool-Seq data (Hivert et al., 2018). It ranged from 8.86% to 9.02% (8.95% on average) for the autosomal data sets and from 17.6% to 17.8% (17.8% on average) for the X-chromosome data sets. Although a higher genetic differentiation is expected for the X-chromosome even under equal contribution of males and females to demography, the almost twice higher overall differentiation observed for the X chromosome compared to autosomes might have been accentuated by unbalanced sex-ratio (e.g., polyandry), male-biased dispersion or a higher impact of selection on the X-chromosome (Clemente et al., 2018). Yet, inferring sex-specific demography was beyond the scope of the present study. For our purposes, however, this finding justified to perform separate genome scans on autosomal and X-linked SNPs.

We ran BAYPASS on the different data sets to estimate, for each and every SNPs, the C_2 statistic that contrast the allele frequencies of native and invasive populations, while accounting for their shared population history as summarized in the scaled covariance matrix Ω (see eq. 1). Interestingly, the estimated Ω matrices for autosomal and X-linked SNPs resulted in a similar structuring of the genetic diversity across the 22 populations

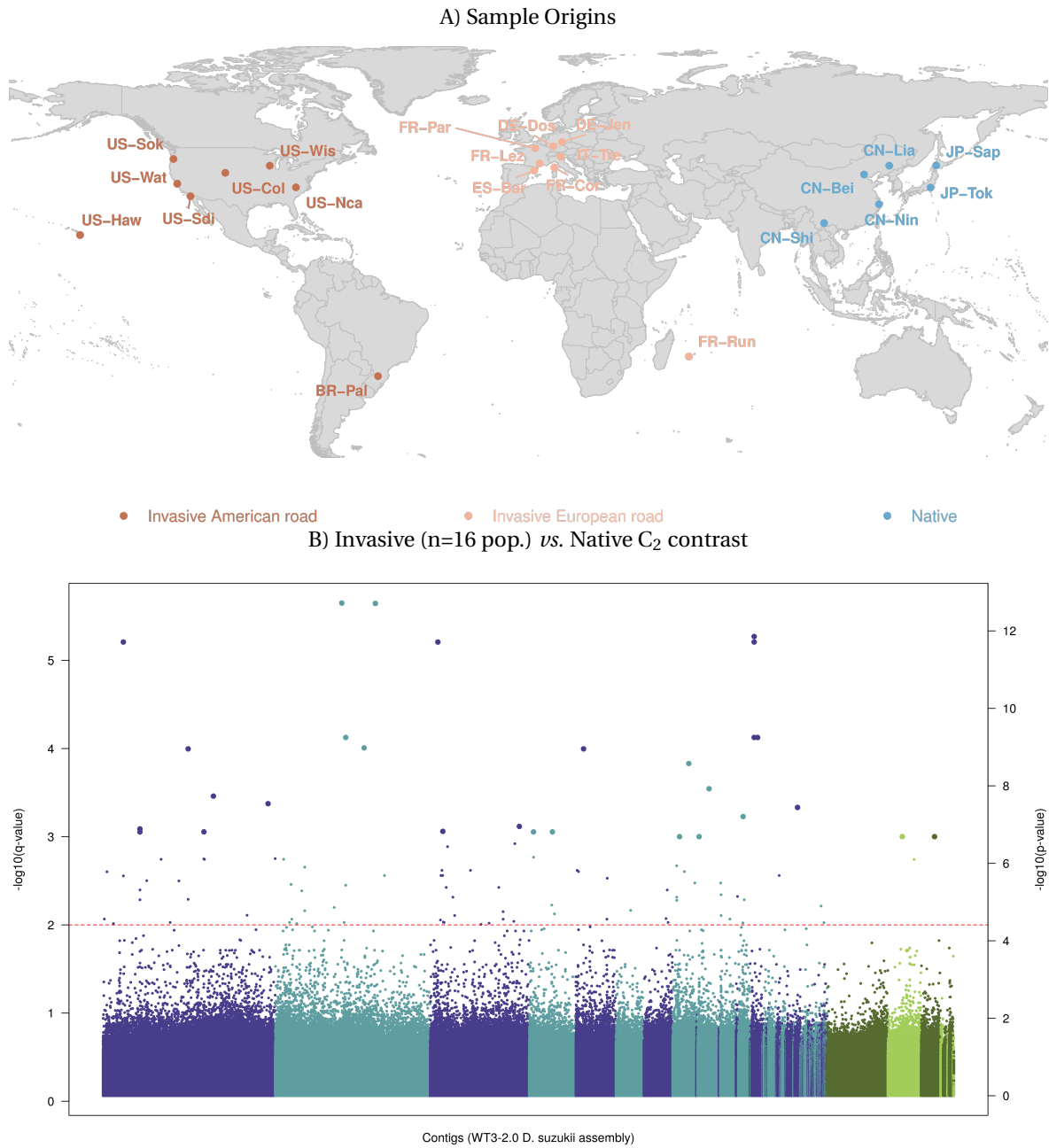


Figure 2 – Whole-genome scan for association with invasive success in *D. sukukii*. A) Geographic location of the 22 *D. sukukii* population samples genotyped using a pool-sequencing methodology. Population samples from the native range are in blue and those from the invasive range are in red (American invasion road) or light red (European invasion road) (Fraimout et al., 2017). See Table S1 for details on each population sample. B) Manhattan plot of the SNP q-values on a $-\log_{10}$ scale derived from the estimated C₂ statistics for the native vs. invasive status contrast of the 22 worldwide *D. sukukii* populations. SNPs are ordered by their position on their contig of origin displayed with alternating dark blue and light blue color when autosomal and dark green and light green when X-linked. The horizontal dashed line indicates the 1% q-value threshold which gives the expected FDR, *i.e.*, the expected proportion of false positives among the 110 SNPs above this threshold (highlighted in the plot). For information, the $-\log_{10}$ p-values scale is also given on the right hand side of the plot (the 1% q-value threshold corresponding here to a p-value threshold of 8.49×10^{-8}).

(Figure S3) which may rule out selective forces as the main driver of the differences of global differentiation levels observed between the two chromosome types. As expected from the simulation results, the distribution of the p-values derived from the C_2 statistics was well-behaved, being close to uniform for higher p-values (Figure S4A). To account for multiple testing issues, we used the *qvalue* R package (Storey and Tibshirani, 2003) to compute the individual SNP q-values plotted in Figure 2B.

A striking feature of the resulting Manhattan plot was the lack of clustering of SNPs with high q-values which might be related to a small extent of linkage disequilibrium (LD) across the *D. sukuzii* populations, as expected from their large effective populations sizes Fraimout et al. (2017). We identified 101 SNPs (including three X-linked) that were significant at the 1% q-value threshold, the later giving the expected proportion of false positives among the SNPs with higher estimated q-values. As a matter of comparison, we also estimated the BF for association of the (standardized) population allele frequencies with the native or invasive status of the population, *i.e.*, under a parametric regression model (Gautier, 2015) (Figure S5A). Out of the 101 significant SNPs previously identified, 80 displayed a $BF > 20$ db, the threshold for decisive evidence according to the Jeffreys' rule (Jeffreys, 1961). However, in total, 6,406 SNPs displayed a $BF > 20$ db probably as a consequence of these BF's not accounting for multiple testing issue. We also compared the C_2 statistics to the XtX measure of overall differentiation. The (two-sided) p-values derived from the later were also well behaved (Figure S4B) and allowed the computation of q-values to control for multiple testing. As shown in Figure S5B, at the same 1% q-value threshold, 71 out of the 101 C_2 significant SNPs were significantly differentiated. The later represented only a small proportion of the 35,546 significantly differentiated SNPs using the XtX measure at this threshold. This is not surprising since invasive success is obviously not the only selective constraint exerted on the 22 worldwide populations considered here.

As mentioned above Fraimout et al. (2017), the North-American (plus Brazil) and European (plus La Réunion Island) populations globally represent separate invasion roads that can be considered as two independent invasive replicates (Figure 2A). Interestingly enough, this invasion historical feature fits well with the overall pattern of structuring of genetic diversity inferred from the Ω matrix estimated with our Pool-Seq data (see above and Figure S3). To identify signals common or specific to each invasive road, we estimated the C_2 statistic associated to the invasive *vs.* native status focusing either on the native and invasive populations of the European road (C_2^{EU}); or native and invasive populations of the American road (C_2^{AM}). Note that the two invasive roads were both represented by eight invasive populations, suggesting similar power for the two C_2^{EU} and C_2^{AM} statistics. As observed above, the distribution of p-values derived from C_2^{EU} and C_2^{AM} were found well behaved (Figures S4C and S4D, respectively) and hence q-values to

control for multiple testing could be confidently computed. The cross-comparisons of the C_2 statistics considering the 22 worldwide populations (hereafter denoted C_2^{WW}), the C_2^{EU} and the C_2^{AM} are plotted in Figures S6A (C_2^{WW} against C_2^{EU}), S6B (C_2^{WW} against C_2^{EU}) and S6C (C_2^{WW} against C_2^{AM}).

In total, 204 SNPs (detailed in Table S2) were significant in at least one of the three contrasts at the 1% q-value threshold. The overlap among the three different sets of significant SNPs was summarized in a Venn diagram displayed in Figure S6D. Among the 68 (respectively 72) SNPs found significant for the C_2^{EU} (respectively C_2^{AM}), 49 (respectively 54) were not significant in other tests and 15 (respectively 14) were significant for C_2^{WW} only. Hence, the majority of the significant SNPs identified with the C_2^{EU} and C_2^{AM} contrasts might be viewed as specific to one of the two invasive roads, the signal being lost in the global worldwide comparison for a substantial proportion of them. This is presumably due to a power decrease resulting from the addition of non-informative populations in the computation of the corresponding C_2 statistic. Conversely, 68 SNPs found significant with C_2^{WW} were not significant with neither C_2^{EU} nor C_2^{AM} contrasts. These might thus correspond to non exclusively convergent signals among the two invasive roads. Most interestingly, four SNPs were found significant at the 1% q-value threshold in the three contrast analyses (C_2^{EU} , C_2^{AM}) and C_2^{WW}) and might thus be viewed as strong candidates for association with the global worldwide invasive success of *D. suzukii*.

3.3 Annotation of candidate SNPs

For annotation purposes, we relied on genomic resources available in *D. melanogaster*, a model species closely related to *D. suzukii*. More specifically we extracted on the WT3-2.0 *D. suzukii* genome assembly 5kb-length genomic sequences surrounding each of the 204 SNPs identified above and aligned them onto the *dmel6* reference genome (Hoskins et al., 2015) using the BLAT algorithm implemented in the program *pblat* (Wang and Kong, 2019). The gene annotation available from the UCSC genome browser allowed us to map 169 SNPs out of the 204 SNPs onto 130 different *D. melanogaster* genes, 145 SNPs lying within the gene sequences and 24 less than 2.5 kb apart (our predefined threshold; Table S2). Only one of the four SNPs significant for the three contrasts (C_2^{WW} , C_2^{EU} and C_2^{AM}) could not be assigned to a *D. melanogaster* gene, because its derived 5 kb-sequences aligned onto a *D. melanogaster* sequence located 10 kb away from the closest annotated gene.

Most of the 130 identified genes (80%) were represented by a single SNP, a feature in agreement with the visual lack of clustering of SNPs with strong signal already observed in the Manhattan plot (Figure 2B). It should be noticed that 14 of the 130 genes (ca. 11%) were long non-coding RNA. As a matter of expedience, we however decided to focus on the 26 genes that were represented by at least two SNPs significant in one of the three

contrast analyses; see Table 1 for details. The significant SNPs underlying the different genes tended to be very close, spanning a few bp (span > 1kb for only five genes). In particular, we observed doublet variants (*i.e.*, adjacent SNPs in complete LD) within three genes (*cpo*, *ome* and *Inc:CR45759*).

<i>D. melanogaster</i> Gene (Full Name)	Position on <i>dmel6</i> (in kb)	Number of significant SNPs			
		All C ₂ (dist. in bp)	C ₂ ^{WW}	C ₂ ^{EU}	C ₂ ^{AM}
Der-1 (Derlin-1)	chr2L:1,974-1,975	2 (236)	1	-	1
Gdi (GDP dissociation inhibitor)	chr2L:9,492-9,495	4 (342)	4	4	-
lncRNA:CR45693 (long non-coding RNA)	chr2L:14,51-14,512	2 (14)	2	1	-
Tpr2 (tetratricopeptide repeat protein 2)	chr2L:16,492-16,507	2 (8)	-	2	-
Ret (Ret oncogene)	chr2L:21,182-21,199	2 (70)	2	-	-
tou (toutatis)	chr2R:11,579-11,616	2 (18)	1	-	2
jeb (jelly belly)	chr2R:12,091-12,119	2 (14)	2	-	-
CG5065	chr2R:16,608-16,625	2 (13)	-	2	-
bab2 (bric a brac 2)	chr3L:1,140-1,177	2 (11189)	1	-	1
axo (axotactin)	chr3L:4,630-4,687	2 (25886)	-	1	1
RhoGEF64C (p guanine nucl. exch. fact. at 64C)	chr3L:4,693-4,796	2 (8)	2	1	1
CG7509	chr3L:4,803-4,805	2 (5)	-	2	-
Con (connectin)	chr3L:4,938-4,976	2 (616)	1	1	-
Ets65A (Ets at 65A)	chr3L:6,098-6,124	2 (27998)	1	1	-
lncRNA:CR45759 (long non-coding RNA)	chr3L:6,787-6,787	4 (106)	-	-	4
ome (omega)	chr3L:14,673-14,748	2 (1)	2	-	-
sa (spermatocyte arrest)	chr3L:21,405-21,407	2 (61)	1	1	-
yellow-e (yellow-e)	chr3R:13,410-13,415	3 (33)	3	-	1
cv-c (crossveinless c)	chr3R:14,392-14,482	4 (2737)	1	-	3
osa (osa)	chr3R:17,688-17,718	2 (29)	-	-	2
cpo (couch potato)	chr3R:17,944-18,016	3 (193)	3	2	3
Rh3 (rhodopsin 3)	chr3R:20,081-20,082	2 (5709)	2	1	-
Ctl2 (choline transporter-like 2)	chr3R:29,123-29,128	2 (3)	-	-	2
Syt12 (synaptotagmin 12)	chrX:13,359-13,368	3 (65)	1	-	2
Ac13E (adenylyl cyclase 13E)	chrX:15,511-15,554	4 (19)	-	-	4
Axs (abnormal X segregation)	chrX:16,680-16,684	2 (11)	-	-	2

Table 1 – Description of the 26 orthologous *D. melanogaster* genes represented by at least two of the 204 SNPs found significant for one of the three contrast analyses, C₂^{WW} (6 native *vs.* 16 invasive populations), C₂^{EU} (6 native *vs.* 8 invasive populations of the European road) and C₂^{AM} (6 native *vs.* 8 invasive populations of the American road). The third column gives the overall number of significant SNPs (at the 1% q-value threshold) and their maximal spacing in bp (on the *D. suzukii* assembly). Columns 4 to 6 gives the number of significant SNPs for each of the three contrast analyses.

Among these 26 candidate genes, 10 (respectively 12) might be considered as specific to the European (respectively American) invasive roads, since they did not contain any SNP significant for the alternative contrasts. Only two genes, *RhoGEF64C* and *cpo* contained SNPs (respectively one and two) significant in all three contrast analyses. Such convergent signals of association with invasive success in the two independent invasive roads were particularly convincing. The median allele frequencies (computed from raw read counts) for the reference allele underlying the corresponding *RhoGEF64C* significant SNP was 0.09 (from 0.00 to 0.44) in the native populations compared to 0.93 (from 0.90 to 0.98) and 0.87 (from 0.59 to 1.00) in the invasive populations of the European and American roads, respectively (Table S2). Similarly, the two SNPs significant for the three contrast analyses in the *cpo* gene actually formed a doublet with a median reference allele

frequency of 0.20 (from 0.02 to 0.33) in the native populations compared to 0.99 (from 0.91 to 1.00, excluding the outlying Hawaiian population) in the invasive populations of the European and American roads, respectively (Table S2). Finally, for both the genes *RhoGEF64C* and *cpo*, all *D. suzukii* extended sequences underlying the corresponding SNPs aligned within potentially rapidly evolving intronic sequences. These sequences nevertheless displayed substantial similarities with other related drosophila species, as shown in Figure 3 for the gene *cpo*.

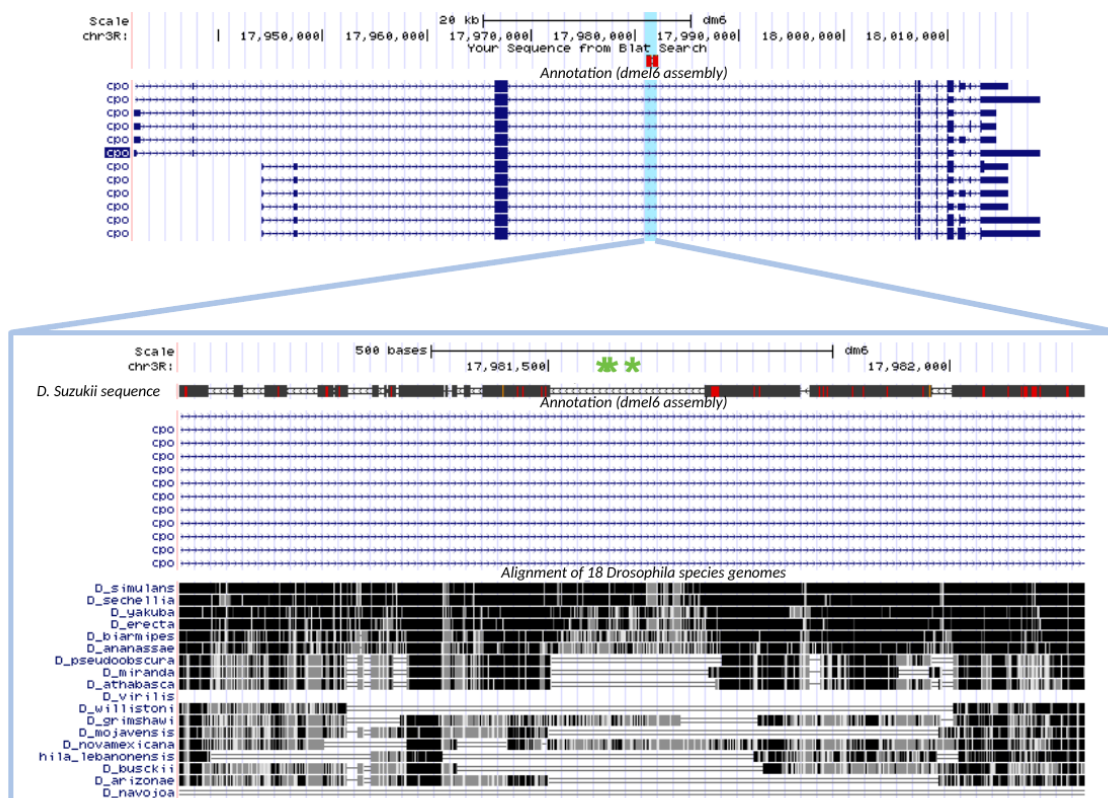


Figure 3 – Mapping of the three significant SNPs within the *cpo* gene onto the *dmel6* reference genome of *D. melanogaster* and alignment with genomes from other *drosophila* species. The aligned *D. suzukii* sequence consisted of a 1,193 bp sequence spanning the three significant SNPs (separated by 193 bp) indicated by a green star in the lower panel (the two first SNPs being those significant for the three contrast analyses). The plots were generated using the UCSC genome browser (<https://genome.ucsc.edu/>).

4. Discussion

We characterized the genome response of *D. suzukii* during its worldwide invasion by conducting a genome-wide scan for association with the invasive or native status of the sampled populations. To that end, we relied on the newly developed C_2 statistics that was aimed at identifying significant allele frequencies differences between two contrasting groups of populations while accounting for their overall correlation structure due to the shared population history. Our approach allowed identifying genomic regions and

candidate genes most likely involved in adaptive processes that favored the *D. suzukii* invasion worldwide. Yet, our approach can be transposed to any other invasive species, and more generally to any species models for which binary traits can be defined at the population level.

4.1 Identification of a small set of SNPs associated with invasive success

Overall, we found that a relatively small number of SNPs were significantly associated with the invasive status of *D. suzukii* populations. This may seem surprising at first sight as the binary trait under study (invasive *vs.* native) is complex in the sense that numerous biological differences may characterize invasive and native populations. Moreover, the invasion process itself, including the associated selective pressures and the genetic composition of the source populations, may differ depending on the considered invaded area. Hence the small number of SNPs showing strong signals of association with the invasion status may stem from the integrative nature of our analysis over a large number of invasive populations from different invasive roads. The genomic features that may be identified under this evolutionary configuration are expected to correspond to major genetic changes instrumental of invasions shared by a majority of populations. Accordingly, it is worth noting that the independent contrast analyses of the two main invasion roads (*i.e.*, the American and the European roads) point to substantially different subsets of SNPs significantly associated to the invasive status of populations. This suggests that the source populations and some aspects of the invasion process considerably differ in the two invaded areas.

The availability of a high quality genome assembly of *D. suzukii* (Paris et al., in prep.) and a large amount of genomic resources in its sister model species *D. melanogaster* allowed us to identify a set of genes associated with the invasive status of populations. A subset of those genes was associated with physiological functions and traits previously documented in *D. melanogaster*, but for most of them, functional and phenotypic studies turned out to be restricted. Their putative role in explaining the invasion success thus remained to a large extent elusive. For sake of concision and to avoid too speculative interpretations (Pavlidis et al., 2012), we will not elaborate further on the candidate genes. Yet we noticed that long non coding RNA represent more than 10% (14 out of 130) of our candidate genes, a feature which may underline a critical role of variants involved in gene regulation to promote short-term response to adaptive constraints during invasion. Most interestingly, two of the four SNPs found highly significantly associated with the invasion status in both the European and American invasive roads pointed to *cpo*, the couch potato gene (Bellen et al., 1992). Previous functional and phenotypic studies carried out in *D. melanogaster* have revealed that this gene underlies traits that might be of interest in the particular context of biological invasion.

4.2 *Cpo* as a strong candidate gene involved in invasion success

The gene *cpo* is a mRNA binding gene first identified in *D. melanogaster* through a screen for genes expressed in sensory organ precursor cells during peripheral nervous system development. The *cpo* mutant flies exhibited a variety of behavioural phenotypes, including abnormal responses to light (Bellen et al., 1992). Later on, Schmidt et al. (2008) found that genetic variation in the fifth exon of *cpo* contributed to natural variation in diapause in *D. melanogaster* populations of a North American cline (but not in an Australian population cline; Lee et al., 2011d). More specifically, diapause variation was associated with amino-acid-changing variation in two sites in the 3' end of the fifth exon. In contrast, the two highly significant SNPs associated with the invasive status in *D. sukukii* corresponded to a doublet mutation located in the middle of the third intron. In addition, the minor allele in the native area populations was found fixed or close to fixation in all invasive populations and hence did not show any latitudinal cline variation.

In *D. melanogaster*, several studies have started to successfully connect the genetic contributions to natural variation in diapause with its adaptive significance. Indirect action of selection on diapause, by means of genetic correlations involving *cpo* genetic variation, was found on numerous other life-history traits, including life span, mortality rates, stress resistance, development time, and fecundity profiles (Schmidt et al., 2005; Schmidt and Paaby, 2008). More specifically, non-diapausing *D. melanogaster* populations had a shorter development time and higher early fecundity, but also a lower rates of larval and adult survival and lower levels of cold resistance than diapausing populations.

The traits influenced by the *cpo* genetic variation observed between native and invasive populations of *D. sukukii* remains unknown. However, *cpo* was found to be also involved in diapause of the more distantly related species *Drosophila montana* (Kankare et al., 2010). It is hence possible, if not likely, that the ability to enter a reproductive diapause, in association with the appearance of a winter morph phenotype (Shearer et al., 2016; Leach et al., 2019), might be at least partially controlled by the gene *cpo* in *D. sukukii*. In agreement with this, the suppression of ovarian development in winter acclimated *D. sukukii* females coincided with high levels of *cpo* transcripts (Toxopeus et al., 2016). It remains nevertheless largely unknown whether other traits correlated to diapause and hence potentially to *cpo* variation are similar to those found in *D. melanogaster*. Further studies assessing the traits directly or indirectly affected by *cpo* genetic variation in *D. sukukii*, and more specifically by the SNPs differentiating the native and invasive populations of this species, are warranted.

If the *cpo* haplotype found at a high frequency in invasive *D. sukukii* populations turns out to be responsible for a low diapause phenotype, a shorter development time

and a higher early fecundity than the haplotype found at high frequency in the native area, then this may explain why the former haplotype has been positively selected during the early stages of the invasion process in the two independently invaded areas. As a matter of fact, both theoretical (Roughgarden, 1971) and experimental (Mueller and Ayala, 1981) evidence show that traits typical for colonization (*i.e.*, the so-called *r*-traits; Charlesworth, 1994), such as a non-diapausing phenotype, are selected when a population evolves in a new habitat with low densities and low levels of competition. One could hypothesized that the *cpo* haplotype at high frequency in invasive populations induces a decrease in generation time and a longer active period outside diapause, with the main consequence of the presence of larger populations, active over a longer period of time. These demographic features fit the timing and explosive growth of *D. sukuzii* populations often observed in crops of the invasive range (Cini et al., 2012; Asplen et al., 2015). The process may also be reversible and once the population installed in an invaded area, the haplotype favoring a fast life-cycle may be counter-selected due to associated evolutionary costs. This would here explain the low observed frequency in the Hawaiian sample (the only invasive population where it was not found close to fixation), Hawaii being the first documented invaded area, more than 25 years before other invaded regions.

Measuring and comparing among populations the number of generations in the wild is a difficult task. Early observations by Kanzawa (1939) across a wide geographic range in the native area of *D. sukuzii* (Asia) indicated that the number of generations could range from 3 to 13 annually, depending upon a variety of climatic factors. *D. sukuzii* is believed to complete up to 10 generations per year in its Californian invasive range (Walsh et al., 2011). Common garden studies are needed to assess potential differences in key life history traits, including diapause induction and correlated traits, between native and invasive populations of *D. sukuzii*.

4.3 Methodological contributions

The C_2 statistics we developed in the present study appears particularly well suited to search for association with population-specific binary traits. Apart from the invasive/-native status we studied in *D. sukuzii*, numerous examples can be found where adaptive constraints may be formulated in terms of contrasting binary population features, including individual resistance or sensibility to pathogens or host-defense systems (*e.g.*, Eoche-Bosy et al., 2017), high *vs.* low altitude adaptation (*e.g.*, Foll et al., 2014), ecotypes of origin (*e.g.*, Roesti et al., 2015; Westram et al., 2014), or domesticated *vs.* wild status (*e.g.*, Alberto et al., 2018). In our simulation study, the performance of the C_2 statistics was similar to that of a standard BF obtained after assuming a linear relationship between the (standardized) population allele frequencies and their corresponding binary status. It is

worth stressing, however, that C_2 has several critical advantages over BF, as well as over any other decision criterion that may be derived from a parametric modeling.

From a practical point of view, the C_2 estimation does not require inclusion of any other model parameters making it more robust when dealing with data sets including a small number of populations (*e.g.*, <8 populations), the later type of data sets often leading to unstable estimates of BF (unpublished results). In addition, it may easily be derived from only a subset of the populations under study (as we did here when computing the C_2^{EU} and C_2^{AM} contrasts specific to each of the two invasive roads), while using the complete design to capture more accurate information about the shared population history. Last, the χ^2 calibration of the C_2 under the null hypothesis represents an attractive property in the context of large data sets since it allows to deal with multiple testing issues by controlling for False Discovery Rates (François et al., 2016), via, *e.g.*, the estimation of q-values (Storey and Tibshirani, 2003).

To estimate the C_2 statistics, we needed to correct allele frequencies for population structure. To that end, we relied on the Bayesian hierarchical model implemented in the software BAYPASS that has several highly valuable properties including (i) the accurate estimation of the scaled covariance matrix of population allele frequencies (Ω), (ii) the integration over the uncertainty of the across population allele frequencies (π parameter), and (iii) the inclusion of additional layers of complexities such as the sampling of reads from (unobserved) allele counts in Pool-Seq data (Gautier, 2015). A cost of Bayesian hierarchical modeling is however to shrink the posterior means of the model parameters and related statistics such as the C_2 and XtX differentiation statistics (Gelman et al., 2003). To ensure proper calibration of the two corresponding estimates, we then needed to rely on the rescaled posterior means of the standardized allele frequencies. This empirical procedure proved efficient in providing well behaved p-values while avoiding computationally intensive calibration procedure based on the analysis of pseudo-observed data sets simulated under the generative model (Gautier, 2015). Still, this did not allow accounting for the uncertainty of the allele frequencies estimation (*i.e.*, their full marginal distribution) and more importantly, it implicitly assumes exchangeability of SNPs both across the populations and along the genome. Such an assumption, which pertains to the null hypothesis of neutral differentiation only (and consequently of no association with binary population-specific covariable), might actually be viewed as conservative even in the presence of background LD across-population, providing that a reasonably large number of SNPs is analyzed. Interestingly, the almost absence of clustering of associated SNPs we observed in the *D. suzukii* genome suggested a very limited extent of across-population LD, presumably resulting from large effective population sizes. This conversely lead to a high mapping resolution. In practice, when dealing with large data sets, a sub-sampling strategy consisting in analyzing data

sets thinned by marker position also allows further reduction of across-population LD (Gautier et al., 2018). Finally, it should be noticed that information from LD might be at least partially recovered by combining C_2 or XtX derived p-values into local scores (Fariello et al., 2017).

Other less computationally intensive (but less flexible and versatile) approaches may be considered to estimate the C_2 statistic. For instance, the C_2 statistic is closely related to the S_B statistic recently proposed by Refoyo-Martinez et al. (2019) to identify footprints of selection in admixture graphs. However, while the C_2 statistic relies on the full scaled covariance matrix of population allele frequencies (Ω), the S_B statistic relies on a covariance matrix called F (Refoyo-Martinez et al., 2019) that specifies an *a priori* inferred admixture graph summarizing the history of the sampled populations. The covariance matrix F thus represents a simplified version of Ω that may only partially capture the covariance structure of the population allele frequencies. In addition, to compute S_B , the graph root allele frequencies are estimated as the average of allele frequencies across the sampled population, which might result in biased estimates, particularly when the graph is unbalanced. Deriving the matrix F from Ω (e.g., Pickrell and Pritchard, 2012) might actually allow interpreting C_2 as a Bayesian counterpart of the S_B statistics, thereby benefiting from the aforementioned advantages regarding the estimation of the parameters Ω and π and allowing proper analysis of Pool-Seq data.

5. Conclusions and perspectives

Our genome-wide association approach allowed identifying genomic regions and genes most likely involved in adaptive processes favoring the invasion success of *D. suzukii*. The approach can be transposed to any other invasive species, and more generally to any species models for which binary traits of interest can be defined at the population level. The major advantage of our approach is that it does not require a preliminary, often extremely laborious, phenotypic characterization of the populations considered (for example using common garden experiments) in order to inform candidate traits for which genomic associations are sought. As a matter of fact, in our association study the populations analyzed are simply classified into two categories: invasive and native.

The functional and phenotypic interpretation of the signals obtained by our genomic scanning methods remains challenging. Such interpretation requires a good functional characterization of the genome of the studied species or, failing that, of a closely related species (i.e., *D. melanogaster* in our study). The journey is then only partially traveled. Following a strategy sometimes referred to as "reverse ecology" since it goes from gene(s) to phenotype(s) (Li et al., 2008), it is then necessary to test and validate via quantitative genetic experiments whether the inferred candidate traits show significant differences between native and invasive populations. The transformation of statistical association

data into functional data can also benefit from experimental validation approaches based on techniques using RNA interference (RNA-silencing, *e.g.*, Janitz et al., 2006) and/or more targeted genome editing approaches at the polymorphism sites identified in the genome wide association study (*e.g.*, Karageorgi et al., 2017). Hopefully, such combination of statistical, molecular and quantitative approaches will provide useful insights into the genomic and phenotypic responses to invasion, and by the same, will help better predicting the conditions under which invasiveness can be enhanced or suppressed.

6. Material and Methods

6.1 Simulation study

We used computer simulations to evaluate the performance of the novel statistical framework described in the above section *New Approach*. Simulated data sets were generated under the SIMUPOP environment (Peng and Kimmel, 2005) using individual-based forward-in-time simulations implemented on a modified version of the code developed by de Villemereuil et al. (2014) for the so-called *HsIMM-C* demographic scenario. This corresponded to an highly structured isolation with migration demographic model (Figure 1A) that was divided in two successive periods: (i) a neutral divergence phase leading to the differentiation of an ancestral population into 16 populations after four successive fission events (at generations $t = 50$, $t = 150$, $t = 200$ and $t = 300$); and (ii) an adaptive phase (lasting 200 generations) during which individuals of the 16 populations were subjected to selective pressures exerted by two environmental constraints (*ec1* and *ec2*), each constraint having two possible modalities (*a* or *b*). We thus had a total of four possible environments in our simulation setting (Figure 1A).

All the simulated populations consisted of 500 diploid individuals reproducing under random-mating with non-overlapping generations. From generation $t = 150$ (with four populations), the migration rate $m_{jj'}$ between two populations j and j' was set to $m_{jj'} = \frac{m}{2^{p-1}}$ where p is the number of populations in the path connecting k to k' in the population tree. The migration rate between the two ancestral populations from generation $t = 50$ to $t = 150$ was set to $m = 0.005$. For illustration purposes, some of the migration edges were displayed in Figure 1A.

Following de Villemereuil et al. (2014), a simulated genotyping data set consisted of 320 individuals (20 per populations) that were genotyped for 5,000 bi-allelic SNPs regularly spread along ten chromosomes of one Morgan length and with a frequency of 0.5 for the reference allele (randomly chosen) in the root population. Polygenic selection acting during the adaptive phase was simulated by choosing 50 randomly distributed SNPs (among the previous 5,000 ones) that influenced individual fitness according to

either the *ec1* or *ec2* environmental constraints (with 25 SNPs for *ec1* and 25 SNPs for *ec2*).

The fitness of each individual, given its genotype, can be defined at each generation. let $p(o) = j$ ($j = 1, \dots, 16$) denote the population of origin of individual o ($o = 1, \dots, 16 \times 500$), and $e_k(j) = 1$ (respectively $e_k(j) = -1$) if the environmental constraint *eck* ($k = 1, 2$) of population j is of type a (respectively b). Let further denote $s_i(k)$ the local selective coefficient of SNP i such that $s_i(k) = 0$ if the SNP is neutral with respect to *eck* and $s_i(k) = 0.01$ otherwise. The fitness of each individual o (at each generation) given its genotypes at all the SNPs is then defined using a cumulative multiplicative fitness function as:

$$w(o) = \prod_{i=1}^I \prod_{k=1}^2 (1 + e_k(p(o)) (1 - g_i(o)) s_i(k)) \quad (6)$$

where $g_i(o)$ is the genotype of individual o at marker i coded as the number of the reference allele (0, 1 or 2).

6.2 Sampling of *D. suzukii* populations and DNA extraction

Adult *D. suzukii* flies were sampled in the field at a total of 22 localities (hereafter termed sample sites) distributed throughout most of the native and invasive range of the species (Fig 1 and Table S1). Samples were collected between 2013 and 2016 using baited traps (with a vinegar-alcohol-sugar mixture) and sweep nets, and stored in ethanol. Only four of the 22 samples were composed of flies which directly emerged in the lab from fruits collected in the field (Table S1). Native Asian samples consisted of a total of six sample sites including four Chinese and two Japanese localities. Samples from the invasive range were collected in Hawaii (1 sample site), Continental US (6 sites), Brazil (1 site), Europe (7 sites) and the French island of La Réunion (1 site). The continental US (plus Brazil) and European (plus La Réunion Island) populations are representative of two separate invasion roads (the American road and the European roads), with different native source populations and multiple introduction events in both invaded areas (Fraimout et al., 2017, ; see Table S1).

6.3 Pool sequencing

For each of the 22 sampling sites, the thoraxes of 50 to 100 representative adult flies (Table S1) were pooled for DNA extraction using the EZ-10 spin column genomic DNA minipreps kit (Bio basic inc.). Barcoded DNA PE libraries with insert size of ca. 550 bp were further prepared using the Illumina Truseq DNA Library Preparation Kit following manufacturer protocols using the 22 DNA pools samples. The DNA libraries were then validated on a DNA1000 chip on a Bioanalyzer (Agilent) to determine size and quantified by qPCR using the Kapa library quantification kit to determine concentration. The cluster generation process was performed on cBot (Illumina) using the Paired-End Clustering kit (Illumina).

Each pool DNA library was further paired-end sequenced on a HiSeq 2500 (Illumina) using the Sequence by Synthesis technique (providing 2x125 bp reads, respectively) with base calling achieved by the RTA software (Illumina). The Pool-Seq data were deposited in the Sequence Read Archive (SRA) repository under the BioProject accession number PRJNA576997.

Raw paired-end reads were filtered using *fastp* 0.19.4 (Chen et al., 2018) run with default options to remove contaminant adapter sequences and trim for poor quality bases (*i.e.*, with a phred-quality score < 15). Read pairs with either one read with a proportion of low quality bases over 40% or containing more than 5 N bases were removed. Filtered reads were then mapped onto the newly released WT3-2.0 *D. sukukii* genome assembly (Paris et al., in prep.), using default options of the *mem* program from the *bwa* 0.7.17 software (Li and Durbin, 2009; Li, 2013). Read alignments with a mapping quality Phred-score < 20 or PCR duplicates were further removed using the *view* (option -q 20) and *markdup* programs from the *SAMtools* 1.9 software Li et al. (2009), respectively.

Variant calling was then performed on the resulting *mpileup* file using *VarScan mpileup2cns* v2.3.4 (Koboldt et al., 2012) (options *-min-coverage* 50 *-min-avg-qual* 20 *-min-var-freq* 0.001 *-variants-output-vcf* 1). The resulting *vcf* file was processed with the *vcf2pooldata* function from the R package *poolfstats* v1.1 (Hivert et al., 2018) retaining only bi-allelic SNPs covered by > 4 reads, < 99.9th overall coverage percentile in each pool and with an overall MAF > 0.01 (computed from read counts). In total, n=11,564,472 SNPs (respectively n=1,966,184 SNPs) SNPs mapping to the autosomal contigs (respectively X-chromosome contigs) were used for genome-wide association analysis. The median coverage per pool ranged from 58X to 88X and from 34X to 84X for autosomal and X chromosomes, respectively (Table S2). As previously described (Gautier et al., 2018), the autosomal and X-chromosome data sets were divided into sub-data sets of ca. 75,000 SNPs each (by taking one SNP every 154 SNPs and one SNPs every 26 SNPs along the underlying autosomal and X-chromosome contigs, respectively).

6.4 Genome scan analyses

All genome-wide scans were performed using an upgraded version (2.2) of BAYPASS (Gautier, 2015) (available from <http://www1.montpellier.inra.fr/CBGP/software/baypass/>), that includes the new C_2 and XtX statistics estimated as described in the above section *New Approach*. We always used the BAYPASS core model with default options for the MCMC algorithm to obtain estimates of four statistical items: (i) the scaled covariance matrix (Ω); (ii) the SNP-specific XtX overall differentiation statistic in the form of both $\widehat{XtX}$, the posterior mean of XtX (Gautier, 2015) and $\widehat{XtX}^*$, our newly described calibrated estimator; (iii) our novel C_2 statistics in the form of the calibrated estimator described above; and (iv) Bayes Factor reported in deciban units (db) as a

measure of support for association with contrasts of each SNP based on a linear regression model (Coop et al., 2010; Gautier, 2015). For BF, a value > 15 db (respectively > 20 db) provides very strong (respectively decisive) evidence in favor of association according to the Jeffreys' rule (Jeffreys, 1961).

For the *D. sukukii* data sets, we specified the pool haploid sample sizes, for either autosomes or the X-chromosome (Table S1), to activate the Pool-Seq mode of BAYPASS. The C_2^{WW} statistics for the contrast of the six native and 16 worldwide invasive populations was estimated jointly with the C_2^{EU} and C_2^{AM} statistics for the contrast of the six native and eight invasive populations of the European and American roads, respectively. For these two latter estimates, this simply amounted to setting $c_j = 0$ (see eq. 3) for all population j not considered in the corresponding contrast analysis. Finally, two additional independent runs (using the option -seed) were performed to assess reproducibility of the MCMC estimates. We found a fairly high correlation across the different independent runs (Pearson's $r > 0.92$ for autosomal and $r > 0.87$ and X-chromosome data) for the different estimators and thus only presented results from the first run. Similarly and for each chromosome type (*i.e.*, autosomes or the X chromosome), a near perfect correlation of the posterior means of the estimated Ω matrix elements was observed across independent runs as well as within each run across SNP sub-samples, with the corresponding FMD distances (Gautier, 2015) being always smaller than 0.4. We thus only reported results regarding the Ω matrix that were obtained from a single randomly chosen sub-data set analysed in the first run.

7. Acknowledgments

This work was supported by grants from the Languedoc-Roussillon region (France) through the European Union program FEDER FSE IEJ 2014-2020 (project CPADROL) and the INRA scientific department SPE (AAP-SPE 2016), provided to L.O., M.G. and A.E.. We are grateful to Nicolas Ris, Jon Koch, Masahito Kimura, Simon Fellous, Vincent Debat, Marta Pascual, Ruth Hufbauer, Marindia Depra, Isabel Martinez, Pierre Girod and Maxi Richmond for help in collecting some of the *D. suzukii* samples.

Supplementary materials

Supplementary tables

Table S1 – Description of the 22 *D. suzukii* population samples. The populations representative of the European and American invasion roads are denoted Invasive (EU) and Invasive (AM), respectively (column 3). For each population sample, the thoraxes of 50 to 100 adult flies were pooled; hence the haploid sample sizes of autosomal loci ranging from 100 to 200 (column 7). Pool-samples included both females and male adults, with different proportions of the two sexes depending on the sample; hence the variable number of haploid sample sizes for the X chromosome (column 7).

Sample name	Sampling site (Lat.; Long.)	Status	Sampling date	Sampling method	Auto. (X) haploid sample size	Auto. (X) median coverage
CN-Bei	Beijing, China (40.00;116.4)	Native	June 2014	Baited trap	100 (89)	88 (84)
CN-Lia	Liaoyuan, China (42.96;125.1)	Native	Aug. 2014	Baited trap	100 (42)	63 (41)
CN-Nin	Ningbo, China (30.02;121.5)	Native	July 2014 & May 2016	Baited trap	100 (86)	59 (56)
CN-Shi	Shiping county, China (23.7;102.5)	Native	June 2014 & May 2016	Baited trap	100 (53)	61 (34)
JP-Sap	Sapporo, Japan (43.05;141.4)	Native	July 2014	Mullberry	100 (54)	77 (40)
JP-Tok	Tokyo, Japan (35.64;139.4)	Native	June 2016	Mullberry, plum	100 (90)	62 (56)
DE-Dos	Dossenheim, Germany (49.45;8.660)	Invasive (EU)	Aug. 2015	Baited trap	100 (58)	73 (49)
DE-Jen	Jena, Germany (50.93;11.56)	Invasive (EU)	Sept. 2016	Baited trap	200 (150)	70 (56)
ES-Bar	Barcelona, Spain (41.36;1.964)	Invasive (EU)	July 2014	Baited trap	100 (50)	71 (37)
FR-Cor	Corsica, France (42.35;9.003)	Invasive (EU)	Aug. 2016	Baited trap	100 (75)	66 (58)
FR-Lez	Montpellier, France (43.70;3.834)	Invasive (EU)	July 2014	Baited trap	200 (150)	82 (65)
FR-Par	Paris, France (48.84;2.361)	Invasive (EU)	Nov. 2016	Baited trap	200 (150)	65 (54)
FR-Run	La Réunion, France (-21.15;55.64)	Invasive (EU)	Sept. 2016	Cattley guava	200 (150)	86 (68)
IT-Tre	Trento, Italy (46.04;11.15)	Invasive (EU)	Sept. 2014	Baited trap	200 (140)	63 (48)
BR-Pal	Porto Alegre, Brazil (-27.72;-52.17)	Invasive (AM)	July 2014	Baited trap	100 (67)	68 (53)
US-Col	Fort Collins, USA (40.57;-105.1)	Invasive (AM)	Sept. 2015	Baited trap	100 (74)	72 (59)
US-Haw	Hawaii (Hilo), USA (19.67;-155.5)	Invasive (AM)	June 2016	Baited trap	100 (75)	87 (71)
US-Nca	Raleigh, USA (35.70;-80.62)	Invasive (AM)	Oct. 2016	Raspberries, Blackberries	200 (150)	67 (54)
US-Sdi	San-Diego, USA (32.72;-117.2)	Invasive (AM)	May 2014	Baited trap	100 (68)	82 (61)
US-Sok	Dayton, USA (45.22;-123.1)	Invasive (AM)	Oct. 2014	Baited trap, sweep net	150 (95)	58 (38)
US-Wat	Watsonville, USA (36.90;-121.8)	Invasive (AM)	Oct. 2014	Sweep net	100 (54)	65 (37)
US-Wis	Barneveld, USA (42.97;-89.69)	Invasive (AM)	Nov. 2016	Baited trap	150 (120)	70 (58)

Supplementary figures

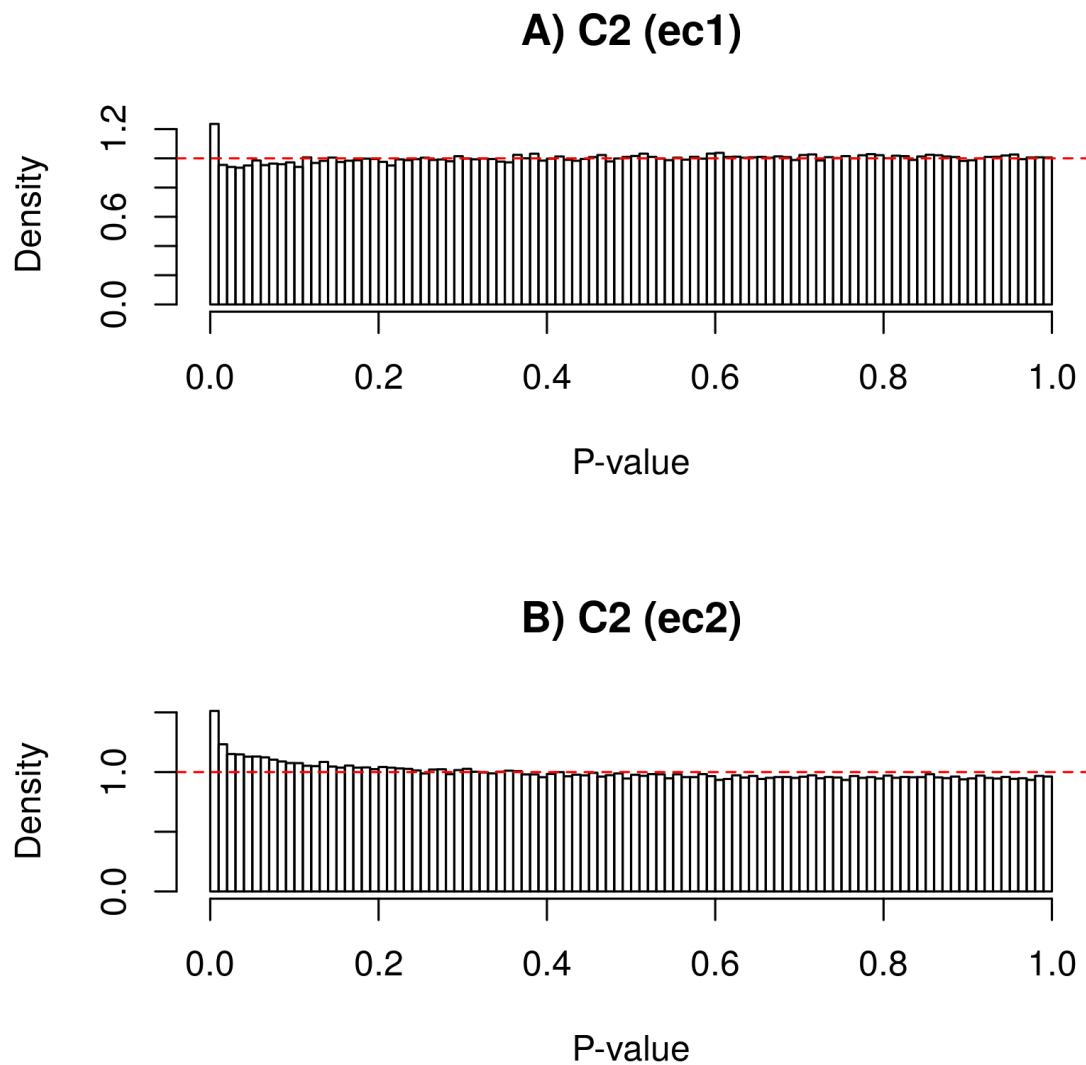


Figure S1 – Distribution of the p-values computed on the simulated data ($n=500,000$ SNPs) and derived from the C_2 statistics for the environmental contrasts *ec1* A) and *ec1* B), assuming a χ^2 null distribution (with one degree of freedom). The red horizontal dashed line represents the uniform distribution.

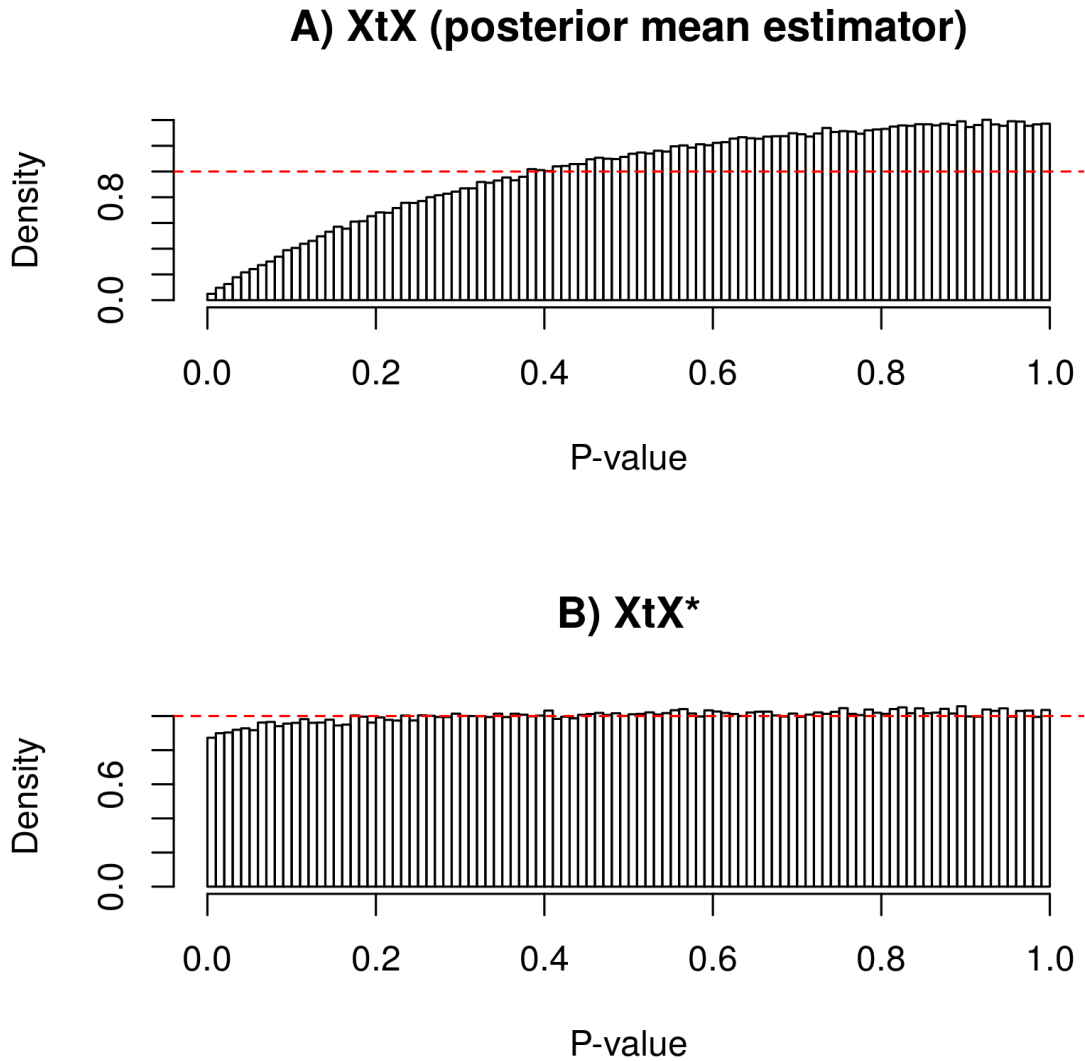


Figure S2 – Distribution of the p-values computed on the simulated data sets ($n=500,000$ SNPs) and derived from the SNP differentiation estimator XtX (posterior mean estimator) A) and the new estimator $\widehat{XtX}^*$ B), assuming a χ^2 null distribution (with $J = 16$, the number of population, degrees of freedom). To account for the bilateral nature of the underlying test (SNPs might be over or under-differentiated if under directional or balancing selection), p-value were computed as $p = 1 - 2 | \Phi_{\chi^2(J)}(\widehat{XtX}) - 0.5 |$, where $\Phi_{\chi^2(J)}$ represents the cumulative density function of the χ^2 distribution with J degrees of freedom. The red horizontal dashed line represents the uniform distribution.

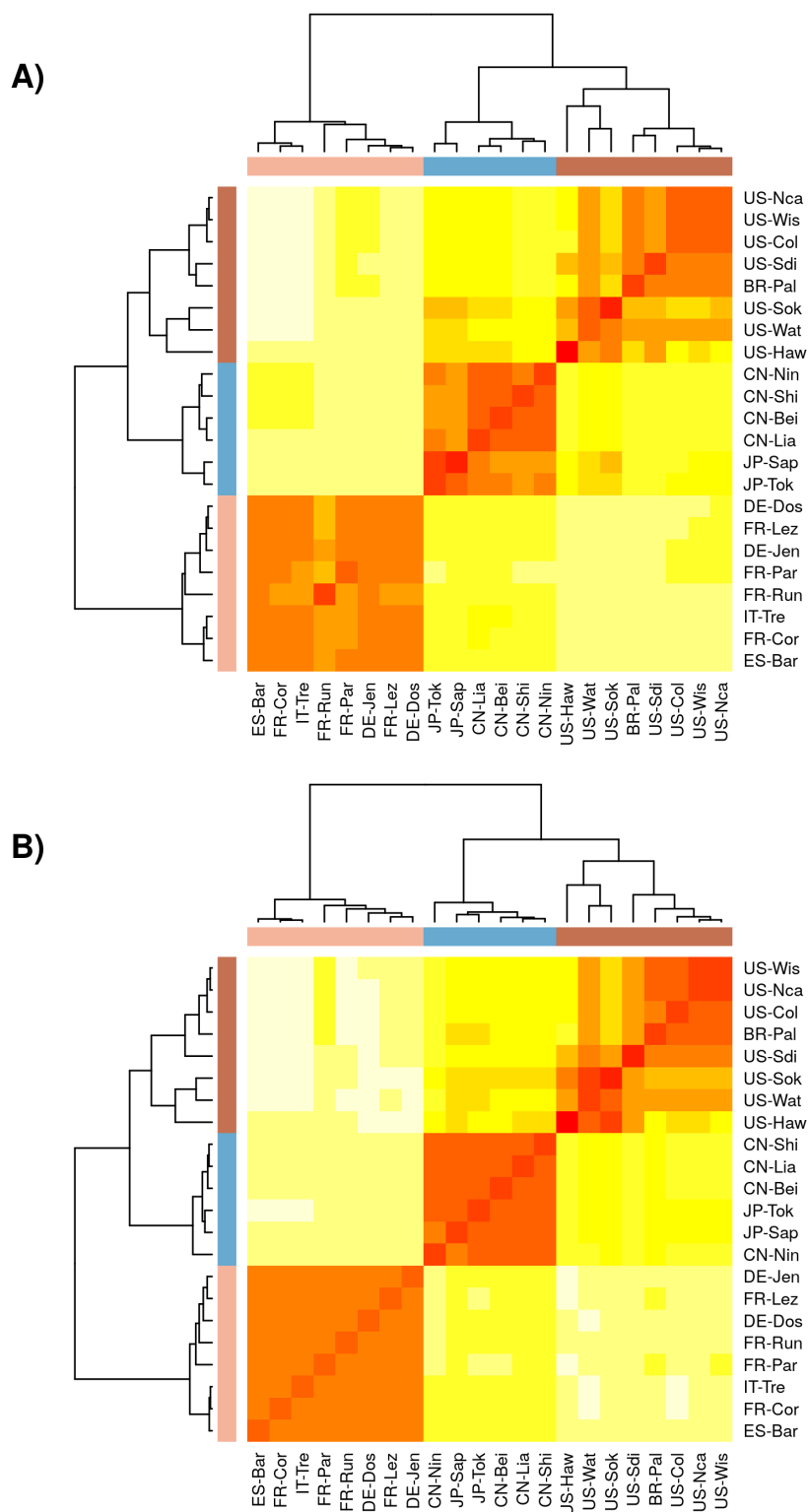


Figure S3 – Correlation plot representation of the scaled covariance matrices of population allele frequencies (Ω) among all 22 *D. sukuzii* populations based on autosomal (A) and X-linked (B) SNPs.

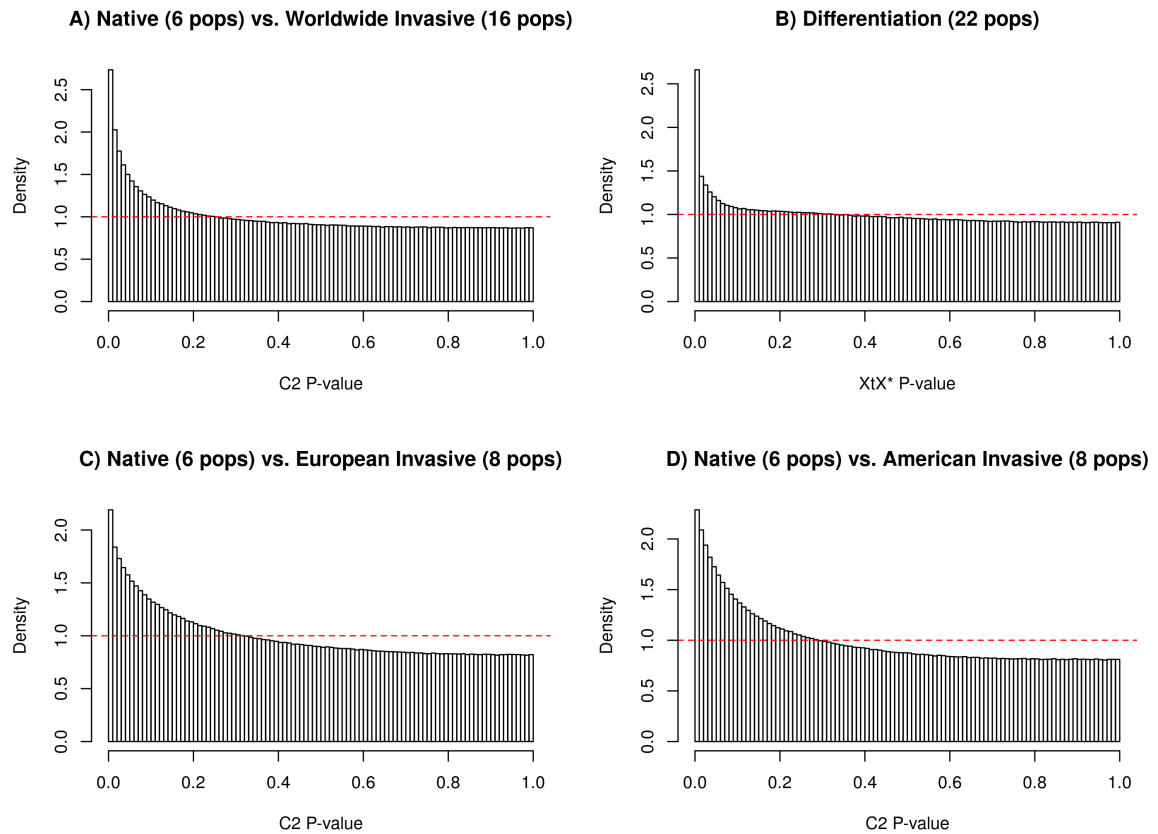


Figure S4 – Distribution of the p-values derived from the C_2 contrast statistics estimated from different analyses [A), C) and D)], and from the $\widehat{XtX^*}$ statistic for genetic differentiation among all 22 populations B). The C_2 contrast statistics were estimated for 6 native *vs.* 16 worldwide invasive populations A), 6 native *vs.* 8 invasive populations of the European road C), and 6 native *vs.* 8 invasive populations of the American road D). The distribution of the (two-sided) p-values derived from the XtX^* differentiation statistics (among all 22 *D. sukikii* populations) is given in B). The red dashed line correspond to the uniform distribution.

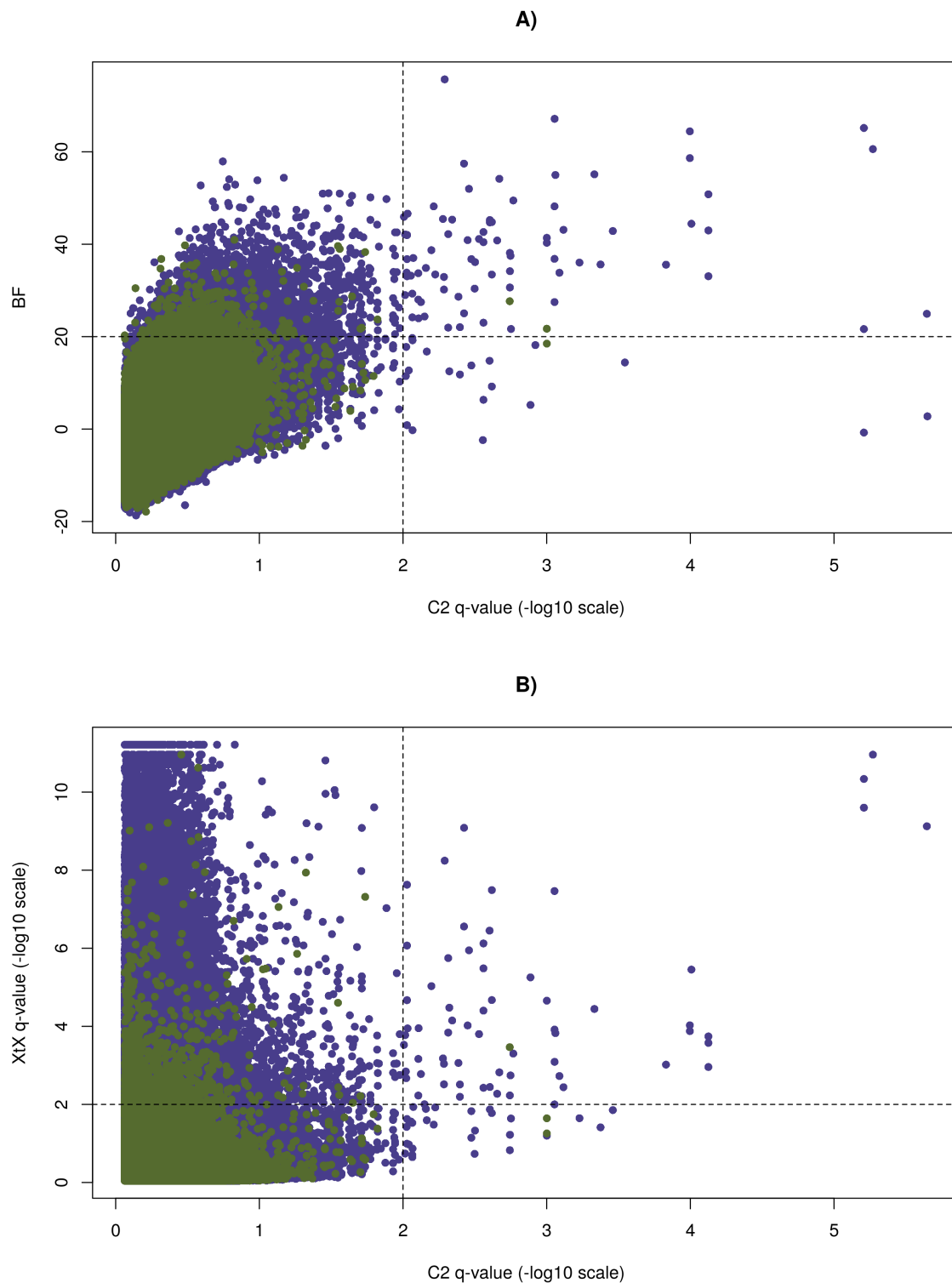


Figure S5 – Comparison of the C_2 statistics for the native *vs.* invasive status of the 22 *D. sukikii* populations (C_2^{WW}) with BF for association A) and with XtX * overall differentiation estimates B). In A) the dashed horizontal line indicates the BF=20 db threshold of decisive evidence according to the Jeffreys' rule (Jeffreys, 1961) and the dashed vertical line to the 0.1% q-value threshold for the C_2 derived q-values. In B) the horizontal and vertical dashed lines indicate the 0.1% q-value threshold for the XtX * and C_2 derived q-values, respectively. Values for the autosomal (X-linked) SNPs are plotted in purple (green).

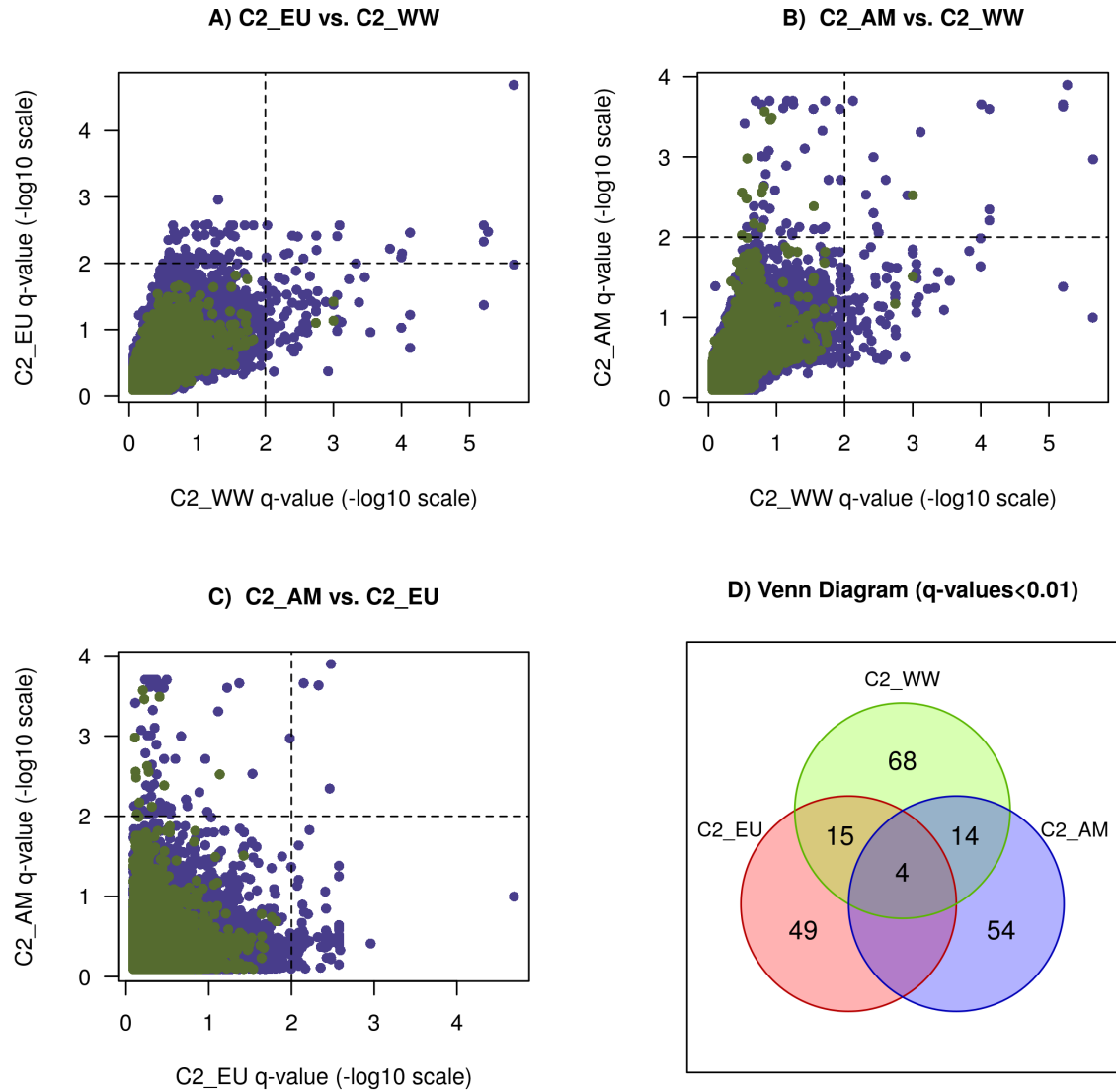


Figure S6 – Pairwise comparison of the q-values derived from the C_2^{EU} statistics (native vs. invasive *D. suzuki* populations of the European road) versus C_2^{WW} statistics (native vs. worldwide invasive populations) A), the C_2^{AM} statistics (native vs. invasive populations of the American road) versus C_2^{WW} statistics B), and the C_2^{AM} statistics versus C_2^{EU} statistics C). In A), B) and C) the dashed vertical and horizontal lines indicate the 1% q-value threshold and for the C_2 derived q-values. D) Venn diagram of the number of SNPs significant at the 1% q-values among the three contrast analyses (C_2^{WW} , C_2^{EU} and C_2^{AM}). Values for the autosomal (X-linked) SNPs are plotted in purple (green).

Chapitre 2

Adaptation et spécialisation d'une espèce généraliste dans un environnement homogène

Les analyses précédentes ont mis en évidence des caractères candidats potentiellement liés au succès invasif de *D. suzukii*. Les expériences de génétique quantitative qui permettent de valider ces caractères candidats sont lourdes et chronophages. Par exemple, les mesures phénotypiques en jardin commun nécessitent une logistique complexe, avec en particulier l'utilisation de populations provenant de différentes localités, disponibles en même temps. De même, une expérience d'évolution expérimentale de *D. suzukii* sur 30 générations est chronophage puisqu'elle dure environ deux ans.

Du fait du temps nécessaire à leur mise en place et leur réalisation, j'ai commencé ma thèse par ce type d'expériences. Je n'ai donc pas pu baser mes investigations expérimentales sur les résultats des analyses d'associations entre les populations envahissantes et natives disponibles tardivement et présentés dans le chapitre précédent (*i.e.*, en étudiant des caractères candidats, comme par exemple le temps de développement ou la diapause). J'ai donc choisi l'utilisation des plantes hôtes comme caractère candidat potentiel pour expliquer le succès évolutif de *D. suzukii*, ce qui a permis d'aborder des questions relatives à la spécialisation écologique.

En effet, une des questions fondamentales dans le domaine de la spécialisation écologique à la plante hôte est l'évolution de compromis de valeur sélective entre environnements. La théorie prédit l'existence de compromis régissant l'utilisation de l'hôte. Pourtant, des populations généralistes de nombreux ravageurs sont observées dans la nature et particulièrement dans les espèces envahissantes, comme *D. suzukii*. Il est donc légitime de se demander, si l'absence d'observation de compromis dans ces populations ne serait pas simplement liée au fait que ces compromis n'ont tout simplement pas encore eu le temps de se mettre en place. C'est notamment le cas pour des populations récemment introduites ou lorsque l'environnement est hétérogène temporellement. L'objectif de cette partie est donc de tester des attendus théoriques de la spécialisation écologique, en déterminant si des compromis entre environnements sont détectés lorsque les individus évoluent dans le même environnement pendant plusieurs

génération.

Une approche possible est l'évolution expérimentale mais elle requiert de nombreuses étapes préliminaires. J'ai ainsi procédé à plusieurs études allant de l'échantillonnage de populations sauvages de *D. suzukii*, la mise au point de techniques d'élevage puis la mise la place d'une série d'expériences pour décider du design expérimental. En effet, les fruits étudiés, la durée du cycle de développement ou le milieu de culture utilisé pour le développement ne doivent pas être choisis de manière anodine. J'ai donc mesuré différents traits d'histoire de vie, comme la préférence de ponte, le taux d'émergence ou le temps de développement, sur 12 milieux fruits, que j'ai préalablement développés (*i.e.*, mise au point du protocole et de la recette de ces milieux par des expériences préliminaires). J'ai ensuite complété ces résultats avec une analyse de la composition des fruits réalisée par un laboratoire extérieur. Cela m'a permis de tester plus précisément l'effet de l'environnement (*i.e.*, sa composition chimique) sur la variation de ces traits. Les résultats de ces analyses préliminaires, complétés d'une revue de la littérature sur le sujet, sont présentés en détails sous la forme d'un manuscrit publié dans le journal « *Environmental Entomology* », intitulé « *Oviposition preference and larval performance of Drosophila suzukii (Diptera : Drosophilidae), spotted-wing drosophila : effects of fruit identity and composition* ». Les connaissances acquises au cours de cette étude ont été utilisées pour toutes les autres expériences de cette thèse. Elles pourront aussi bénéficier à toutes les personnes intéressées par l'utilisation de l'hôte chez *D. suzukii*.

Dans un second temps, j'ai pu lancer une expérience d'évolution expérimentale. Afin de tester l'évolution de compromis évolutifs, j'ai réalisé une expérience où 40 populations expérimentales ont évolué sur un milieu homogène (huit fruits testés via des milieux réalisés à partir de purées de fruits) pendant plusieurs générations (dix prévues initialement). Suite à une dynamique démographique défavorable (extinction de nombreuses lignées), le premier phénotypage initialement prévu à la 10^{ème} génération a eu lieu à la 7^{ème} génération. Un second phénotypage a pu néanmoins être réalisé à la 29^{ème} génération sur un sous-ensemble de populations expérimentales. Ces résultats sont quant à eux présentés en détail sous la forme d'un manuscrit soumis à publication dans le journal « *Evolution* », intitulé « *Evolution of trade-offs across environments following experimental evolution of the generalist Drosophila suzukii to different fruit media* ».

Oviposition preference and larval performance of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae), spotted-wing drosophila: effects of fruit identity and composition

Laure Olazcuaga^{1,6}, Nicolas O. Rode¹, Julien Foucaud¹, Benoit Facon², Virginie Ravigné³, Aurélien Ausset¹, Nicolas Leménager⁴, Anne Loiseau¹, Mathieu Gautier¹, Arnaud Estoup¹, and Ruth A. Hufbauer⁵

Authors affiliation:

¹ CBGP, INRA, CIRAD, IRD, Montpellier SupAgro, Univ Montpellier, Montpellier, France

² INRA, UMR PVBMT, Saint Pierre, France

³ CIRAD, UMR PVBMT, Saint Pierre, France

⁴ CBGP, CIRAD, Montpellier SupAgro, INRA, IRD, Univ Montpellier, Montpellier, France

⁵ Department of Bioagricultural Science and Pest Management and Graduate Degree Program in Ecology, Colorado State University, Fort Collins, CO 80523, USA

⁶ Corresponding author: Laure Olazcuaga, E-mail: olaz.laure@gmail.com

Published in *Environmental Entomology*, Volume 48, Issue 4, August 2019, Pages 867–881

<https://doi.org/10.1093/ee/nvz062>

Abstract

A better understanding of the factors affecting host plant use by spotted-wing drosophila (*Drosophila suzukii*) could aid in the development of efficient management tools and practices to control this pest. Here, proxies of both preference (maternal oviposition behavior) and performance (adult emergence) were evaluated for 12 different fruits in the form of purees. The effect of the chemical composition of the fruits on preference and performance traits was then estimated. We synthesized the literature to interpret our findings in the light of previous studies that measured oviposition preference and larval performance of *D. suzukii*. We show that fruit identity influences different parts of the life cycle, including oviposition preference under both choice and no-choice conditions, emergence rate, development time, and number of emerging adults. Blackcurrant was always among the most preferred fruit we used, while grape and tomato were the least preferred fruits. Larvae performed better in cranberry, raspberry, strawberry, and cherry than in the other fruits tested. We found that fruit chemical compounds can explain part of the effect of fruit on *D. suzukii* traits. In particular, oviposition preference under choice conditions was strongly influenced by fruit phosphorus content. In general, the consensus across studies is that raspberry, blackberry, and strawberry are among the best hosts while blackcurrant, grape and rose hips are poor hosts. Our results generally confirm this view but also suggest that oviposition preferences do not necessarily match larval performances. We discuss opportunities to use our results to develop new approaches for pest management.

Key words: host use; chemical composition; mother knows best hypothesis; compound

Manuscript B - Table of contents

1.	Introduction	90
2.	Methods	92
2.1	Field sampling and laboratory maintenance	92
2.2	Artificial fruit media	92
2.3	Experimental conditions	94
2.4	Measuring oviposition preference	94
2.5	Measuring performance	95
2.6	Literature review	95
2.7	Statistical analyses	95
2.8	Fruit chemical composition	97
3.	Results	98
3.1	Does oviposition preference vary among fruits?	98
3.2	Does performance vary among fruits?	99
3.3	Relationship between preference and performance	102
3.4	The influence of different compounds on preference and performance	103
3.5	Review of the literature	105
4.	Discussion	107
5.	Conclusion	111
	Supplementary materials	113

1. Introduction

Drosophila suzukii Matsumura, the spotted-wing drosophila, is a vinegar fly from East-Asia, that was first found in North America and Europe in 2008 and has since spread rapidly across much of both regions (Cini et al., 2012; Deprá et al., 2014; Asplen et al., 2015). Unlike most other *Drosophila* species, which oviposit on decaying fruits, *D. suzukii* is able to lay eggs in ripe, unblemished fruits due to the female's prominent serrated ovipositor (Lee et al., 2011c; Walsh et al., 2011). In the introduced range, *D. suzukii* is a major pest of a wide variety of fruit crops (Asplen et al., 2015).

To provide growers with immediate help, management techniques have first focused on application of pesticides (Cini et al., 2012; Rota-Stabelli et al., 2013). But, even with these approaches, damage is observed in crops (Rogers et al., 2016; Kenis et al., 2016). To optimize management efforts growers are encouraged to monitor population levels using bait traps. However, commercial traps are not species specific (Walsh et al., 2011). Furthermore, the information they provide is of minimal use, as the number of adults caught in bait traps is a poor predictor of fruit damage (Kirkpatrick et al., 2017). Both the optimization of trap use and the development of alternative control measures such as biological control require a detailed understanding of host use by *D. suzukii* (Walsh et al., 2011). Here, we try to fill in some of the remaining knowledge gaps regarding *D. suzukii* host use to facilitate development of management tools. Specifically, a better understanding of host preference might help predict which fruits might be attacked by *D. suzukii* when a variety of different hosts is available, as often observed in complex cropping systems, and could be used to identify trap plants (*i.e.*, plants that are attractive to insects and confer low performance; Poyet et al., 2015). Moreover, information on the effect of particular chemical compounds on host preference could help guide research on how to trap *D. suzukii* through the season more effectively; *e.g.*, by testing traps with attractive compounds and deploying them more effectively in time and space.

Fundamentally, host use is determined by the decisions that females make regarding where to oviposit (oviposition preference) and the ability of their larvae to develop into adults on the chosen host (Jaenike, 1990; Ravigné et al., 2009). Thus, the characterization of adult oviposition preference and larval performance represents a first step toward a better understanding of host use. Previous studies have explored host use in *D. suzukii*, either 1) by monitoring adult emergence in field-collected fruits (Elsensohn and Loeb, 2018; Lee et al., 2015; Kenis et al., 2016; Pelton et al., 2016; Lee et al., 2016); or 2) by measuring preference and performance on whole fruits in laboratory experiments (Lee et al., 2011a; Burrack et al., 2013; Jaramillo et al., 2015; Poyet et al., 2015; Briem et al., 2016; Karageorgi et al., 2017). However, general conclusions regarding the drivers of preference and performance remain difficult to draw. While field data provide direct and useful information on which hosts are being used in nature, they do not allow distinguishing the contributions of adult preference and larval performance, nor reveal the mechanisms driving differences in preference and performance among different fruits. Conversely, while the use of whole fruits in laboratory experiments allows integration across different aspects of a fruit (size, shape, odor, color) in measures of host use, seasonal availability of fruits throughout the year make it difficult to study more than a few host plant species at a time.

Which fruit characteristics drive the differences in preference and performance among fruits remains unclear. Several authors have investigated the role of chemical compounds found in fruits on different life history traits using artificial media (Bellamy et al., 2013; Abraham et al., 2015; Karageorgi et al., 2017; Silva-Soares et al., 2017; Aly, 2018; Rendon et al., 2018, 2019; Wallingford et al., 2018). The protein to carbohydrate ratio represents a key aspect of fruit composition that is known to affect both larval development and adult survival in *D. suzukii* (Young et al., 2018). Generally, larvae survive better on media with low protein to carbohydrate ratios, in other words high carbohydrate diets (Silva-Soares et al., 2017; Rendon et al., 2019, 2018). These results, however, also depend on other factors such as temperature (Rendon et al., 2019, 2018) or the presence of antimicrobial compounds in the medium (Young et al., 2018). Proteins and lipids are known to affect fitness traits in different species of *Drosophila* such as development time and body size (Royes and Robertson, 1964), reproductive output and aging (Tu and Tatar, 2003). Additionally, several elements, such as magnesium and phosphorus, may influence these traits (Awmack and Leather, 2002; Markow and O'Grady, 2008) but their potential effects on oviposition preference and performance in *D. suzukii* remain to be investigated. An initial understanding of the role of such compounds can be gained by analyzing the chemistry of fruits that are more or less preferred by *D. suzukii* and among which performance varies.

The preference of ovipositing females for where to lay their eggs, and the performance of their offspring are hypothesized to be correlated in phytophagous insects ('mother knows best' hypothesis; (Thompson, 1988; Gripenberg et al., 2010; Jaenike, 1990). Recently such a correlation was observed in *D. suzukii* reared on artificial diets (Young et al., 2018). In contrast, a field study found that preference and performance were not correlated when comparing fruits from 67 different host plants (Poyet et al., 2015). As plants were sampled at different locations and throughout the year, this lack of correlation could also be due to spatial or temporal variation in *D. suzukii* abundance independent of fruit effects. For example, emergence rates might be lower during winter than summer, which could reduce correlations between preference and performance. Despite the large number of studies investigating the effect of different fruits on *D. suzukii* preference and performance (e.g., Burrack et al., 2013), there is currently no review available of the existing literature.

To provide the fundamental biological knowledge necessary to enhance effective integrated pest management strategies, we undertook a deeper exploration of host use by *D. suzukii*, including how the chemical composition of multiple different fruits influences maternal oviposition preference and adult emergence (performance). In this study, we presented flies with purees from twelve different fresh fruits in laboratory experiments and measured several traits to address two specific questions: 1) How do oviposition preference and the adult emergence of *D. suzukii* vary among different fruits, and are they correlated? 2) Do particular chemical compounds influence variation in preference and performance among fruits? We further undertook the first review of the literature on variation in preference and performance among fruits in *D. suzukii*, allowing us to compare our results with those from previous studies. This approach reveals general patterns regarding the variation in female oviposition preference and larval performance among fruits.

2. Methods

2.1 Field sampling and laboratory maintenance

Drosophila suzukii were collected in the vicinity of Montpellier, France (six sampling sites within 10 km of Montpellier) in October 2016 using baited cup traps (Lee et al., 2013). About 1,000 flies were used to initiate a laboratory population. Prior to the start of the experiments, flies were maintained for seven generations on standard laboratory fly food ('German food' formulation consisting of sugar, dry yeast, minerals, and antifungal solution; http://flystocks.bio.indiana.edu/Fly_Work/media-recipes/germanfood.html) at $21 \pm 2^\circ\text{C}$ (which was within the range of temperatures measured in the field during collection and allows maintaining a high reproductive output in the lab, Ryan et al., 2016), 65% relative humidity, and 16:8 (L:D) h light cycle in a controlled climate chamber. We used this diet without fruit to avoid selecting for higher preference or higher performance on any given fruit. The population was maintained in 100 tubes with 20 individuals per tube (*i.e.*, a census population size of approximately 2,000 individuals). Generations were nonoverlapping. Approximately 20 adult flies were placed in each tube to allow females to oviposit. All flies were removed after 24 h. Fifteen days later, emerging adults were mixed across tubes and randomly distributed into groups of 20 adults in 100 new tubes to maintain a panmictic population. Those adults were allowed to mature and mate for 7 d before starting the cycle again.

2.2 Artificial fruit media

Oviposition preference and adult emergence were evaluated on fresh medium made using 12 different fruits. We selected a range of fruits that included crops of agronomic interest that are all attacked to varying degrees (apricot, blackcurrant, cherry, cranberry, fig, grape, raspberry, strawberry), crops that are not currently attacked (tomato, kiwi), and two non-crop species known to be hosting *D. suzukii* (wild blackberry and rose hips). We informed our choice with feedback from local pest management partners (FREDON Languedoc Roussillon, France and CTIFL, France) about the importance of *D. suzukii* as an agronomic pest of different fruits, as well as a principal component analysis (PCA) of fruit composition based on the food composition available in the Ciqua database from ANSES (French Agency for Food, Environmental, and Occupational Health and Safety, <https://ciqua.anses.fr/>). This PCA facilitated the selection of fruits that differed in carbohydrate, lipid, protein, and mineral composition (Supp Fig. S1). Key information about the 12 fruits is summarized in Table 1.

Table 1 – Key information about the 12 fruits used in the experiments carried out in the present study. The world distribution of fruits is estimated by records of occurrence obtained in two open access international naturalist networks (gbif.org and eol.org). The local distribution is the presence or the absence of the fruit in the area where *D. suzukii* were sampled in the present study (Montpellier region, France). The potential host is based on fruits reported in the literature as host in the field, based on (Cini et al., 2012; Asplen et al., 2015; Poyet et al., 2016). Information on the level of damage on fruits are based on (Steffan et al., 2013; Lee et al., 2015). The numbers in the last two columns correspond to an arbitrary ranking from local pest management partners (FREDON Languedoc Roussillon, France and CTIFL, France) regarding the impact of *D. suzukii* as a pest for the different fruits (rank 1 = highest level of impact).

Fruit	Name	Family	World Distribution	Local distribution	Type	Potential host	Damage	FREDON	CTIFL
Tomato	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>Solanaceae</i>	USA, Europe, China, Japan	presence	crop	yes	low		
Grape	<i>Vitis vinifera</i>	<i>Vitaceae</i>	USA, Europe (+), China, Japan	presence	crop	yes	low	6	
Blackberry	<i>Rubus fruticosus</i>	<i>Rosaceae</i>	USA, Europe (+), Japan	presence	non-crop	yes	not reported	4	7
Kiwi	<i>Actinidia chinensis</i>	<i>Actinidiaceae</i>	USA, Europe, China (+), Japan	absence	crop	yes	not reported		
Raspberry	<i>Rubus idaeus</i>	<i>Rosaceae</i>	USA, Europe (+), China, Japan	presence	crop	yes	high	3	3
Strawberry	<i>Fragaria x ananassa</i>	<i>Rosaceae</i>	USA, Europe, China, Japan	presence	crop	yes	high	2	2
Fig	<i>Ficus carica</i>	<i>Moraceae</i>	USA, Europe (+), China, Japan	presence	crop	yes	middle	7	6
Rose hips	<i>Rosa canina</i>	<i>Rosaceae</i>	USA, Europe (+), Japan(-)	presence	non-crop	yes	not reported		
Cherry	<i>Prunus avium</i>	<i>Rosaceae</i>	USA, Europe (+), China, Japan	presence	crop	yes	high	1	1
Blackcurrant	<i>Ribes nigrum</i>	<i>Grossulariaceae</i>	USA (-), Europe (+), China (-), Japan (-)	presence	crop	yes	not reported		5
Cranberry	<i>Vaccinium macrocarpon</i>	<i>Ericaceae</i>	USA, Europe, Japan	absence	crop	yes	high		
Apricot	<i>Prunus armeniaca</i>	<i>Rosaceae</i>	USA, Europe, China, Japan	presence	crop	yes	middle	5	4

We used media made with fruit purees rather than whole fruit to isolate effects of fruit flesh on preference and performance from the influences of the skin thickness, skin color, size, and shape of fruits. These fruits also ripen at different times of year, and the use of purees allowed us to assay them simultaneously in the laboratory. All purees were produced by private societies with techniques aimed to preserve the organoleptic qualities of fresh fruit. The purees were made from ripe fruits picked in the wild or grown with conventional agriculture (see Supp Table S1 for details regarding fruit varieties). No sugar, coloring or preservatives were added. The purees were held frozen prior to use to maintain their original flavors and colors. Fruit medium was prepared by mixing each fruit puree with a small amount of agar dissolved in warm water ($\leq 50^{\circ}\text{C}$), inactive yeast and an antifungal compound. See Supp Table S2 for details of the recipe and references for each product used to make experimental fruit media.

2.3 Experimental conditions

The experimental conditions for raising individuals on artificial fruit media were the same as for population maintenance. During the experiment, tubes with each fruit medium were randomly distributed among three racks (100 tubes per rack). Racks were arranged randomly in the climate chamber.

2.4 Measuring oviposition preference

Oviposition was measured using two distinct and complementary protocols. Female preference among different fruits was measured in a choice environment whereas the degree to which different fruits stimulated oviposition was measured in a no-choice environment. The choice environment was a rectangular arena that contained each of the 12 different fruit media distributed randomly into 12 compartments (Supp Fig. S2). For practical reasons, we measured oviposition preference using groups of 20 six-day-old *D. suzukii* adults. We placed 20 flies in each oviposition arena for 18 h to oviposit, removed them, and then counted the eggs laid on each fruit. At this stage of adult development, all females are ready to oviposit (Emiljanowicz et al., 2014). The sex ratio of the adults was neither controlled nor measured. While this increased variation in the total number of eggs among arenas, it should not cause any bias in preference toward a particular fruit. The advantages of this approach were that we were able to handle more flies and increase the number of replicates (150 arenas over two temporal blocks of 75 each, separated by 2 d). Having many replicates allowed us to estimate mean preference for each fruit more accurately. Additionally, controlling the sex ratio would have required additional stressing manipulation of each individual when forming groups (for instance a longer time under CO_2 for anesthesia), which is stressful for them. Arenas were arranged randomly in a climate chamber. Oviposition preference for each fruit medium was measured as the number of eggs laid in the corresponding fruit compartment after controlling for differences among arenas in the total number of eggs laid.

To study oviposition stimulation in a no-choice environment, we put 18 seven-day-old *D. suzukii* adults into a tube with a single fruit medium (approximately 10 ml, Supp Fig. S3) to mate and oviposit. Again, adult sex ratios were neither controlled nor measured. Each fruit medium was replicated 20 times. After 14 h, adults were removed, and the number of eggs laid in each tube

was counted. The average number of eggs per tube indicates how much a given fruit stimulates oviposition independently of the other fruits.

2.5 Measuring performance

To evaluate performance (adult emergence), we reared flies from egg to adult on each of the 12 different fruit media using the tubes from the no-choice oviposition preference trial. Starting 10 d after oviposition, the adults that emerged were counted each day until none had emerged for at least 45 d. Emergence rate was calculated as the total number of adults divided by the initial number of eggs. The development time of each emerging adult was measured as the number of days from oviposition to emergence. To estimate global performance, we also evaluated the total number of adults as the cumulative sum (over time) of all adults that emerged from a tube. This variable was used as a proxy for fitness that integrates fecundity and emergence rate.

2.6 Literature review

We systematically reviewed published studies dealing with host preference and performance in *D. suzukii* that were identified with a Web of Science search (see Appendix 1 in Supp Materials). We found a total of 23 studies that examined performance (Supp Table S3) or preference (Supp Table S4) in *D. suzukii*. To facilitate comparison, we selected only the seven studies that tested at least three of the fruits included in our study. For each of these experiments, we recorded the ranking of each fruit to evaluate general trends in host use by *D. suzukii*.

2.7 Statistical analyses

All analyses were performed using the R statistical software (R Core Team, 2014). Count (number of eggs or number of adults) and emergence rate data were analyzed using generalized linear mixed models (GLMM) as implemented in the ‘lme4’ package (Bates et al., 2015).

In the choice environment experiment, the number of eggs y_{ij} observed in the i^{th} fruit treatment ($i = 1, \dots, 12$), on the j^{th} arena ($j = 1, \dots, 150$) was assumed to follow a Poisson distribution with parameter λ_{ij} that was modeled as follows:

$$\log(\lambda_{ij}) = fruit_i + arena_j + obs_{ij} \quad (1)$$

where $fruit_i$ is the fixed effect of fruit treatment i , $arena_j$ is the random effect of arena j assumed to be normally distributed with a zero mean and a σ_{arena}^2 . To account for overdispersion, we added to each observed count an observation-specific random effect obs_{ij} , assumed to be normally distributed with a zero mean and a variance σ_{obs}^2 .

In the no-choice environment, the number of eggs y_{ijk} observed in the i^{th} fruit treatment ($i = 1, \dots, 12$), from the j^{th} rack ($j = 1, \dots, 3$) and the tube at the k^{th} rack position ($k = 1, \dots, 6$) was assumed to follow a Poisson distribution with parameter λ_{ijk} that was modeled as follows:

$$\log(\lambda_{ijk}) = rack_i + fruit_j + pos_k + obs_{ijk} \quad (2)$$

where $rack_i$ is the fixed effect of the rack i , $fruit_j$ is the fixed effect of fruit treatment j and pos_k is the fixed effect of the position k within rack. The rack and position environment effects were treated as fixed effects due to their small number of categories (three rack identities and six positions within each rack). To account for overdispersion, we added an observation-specific random effect: obs_{ijk} assumed to be normally distributed with a zero mean and a σ_{obs}^2 .

The emergence rate p_{ijk} in the i^{th} fruit treatment ($i = 1, \dots, 12$), from the j^{th} rack ($j = 1, \dots, 3$) and the tube at the k^{th} position ($k = 1, \dots, 6$) was assumed to follow a binomial distribution with parameters $eggs_{ijk}$ (the observed number of eggs) and p_{ijk} (the emergence rate), that was modeled as follows:

$$\log\left(\frac{p_{ijk}}{1 - p_{ijk}}\right) = rack_i + fruit_j + pos_k + eggs_{ijk} + fruit:eggs_{ijk} + obs_{ijk} \quad (3)$$

where the terms $rack_i$, $fruit_j$, pos_k , and obs_{ijk} are as previously defined and $fruit:eggs_{ijk}$ is the interaction between the number of eggs in a tube and underlying fruit treatment allowing to test whether the effect of egg density differed across fruits. Note that the number of laid eggs $eggs_{ijk}$ was also included as a fixed effect to control for varying egg density among both tubes and fruits (since some fruits stimulating more oviposition than others; see results of no-choice preference tests).

The total number of adults y_{ijk} that emerged from the i^{th} fruit treatment ($i = 1, \dots, 12$), from the j^{th} rack ($j = 1, \dots, 3$) and tube at the k^{th} position ($k = 1, \dots, 6$) was assumed to follow a Poisson distribution with parameter λ_{ijk} that was modeled as follows :

$$\log(\lambda_{ijk}) = rack_i + fruit_j + pos_k + eggs_{ijk} + fruit:eggs_{ijk} + obs_{ijk} \quad (4)$$

where all terms are as defined above.

We also tested the effect of fruit on the temporal emergence dynamics in each fruit medium. Development time (measured as the number of days after the first emergence of an adult in all the fruits) was analyzed using the ‘survival’ package (Therneau, 2018) assuming it followed a log-normal distribution:

$$\log(t_{ijk}) = \mathcal{N}(\mu_{ijk}, \sigma_{ijk}), \quad (5)$$

where t_{ijk} represents the development time of a given adult in the i^{th} fruit treatment ($i = 1, \dots, 12$), from the j^{th} rack ($j = 1, \dots, 3$) from the tube at the k^{th} position ($k = 1, \dots, 6$), following the same notations as above. The scale parameter, μ_{ijk} , was modeled as:

$$\mu_{ijk} = rack_i + fruit_j + pos_k + eggs_{ijk} + fruit:eggs_{ijk}$$

and the shape parameter σ_{ijk} was modeled as:

$$\sigma_{ijk} = fruit:eggs_{ijk}$$

where $fruit : bineggs_{ijk}$ represents the interaction term between the fruit treatment and the egg density binary class (either low or high). Indeed, because the software does not allow to fit continuous covariates on the shape parameter $sigma_{ijk}$, we binned the number of laid eggs $eggs_{ijk}$ in two egg density categories (below or above the observed median number of eggs laid in each fruit medium). Development time was calculated as the probability of emergence each day. This proportion of daily emergence was calculated as the number of adults that emerged between time t and $t + 1$ divided by the number of adults that were not yet emerged at time t .

Fundamentally, we are interested in the global performance of *D. suzukii* on different fruits. Despite statistical significance, the biological magnitude of the interactions between egg density and fruit media were relatively small for most fruits (see Results section below). Therefore, to estimate the effect of fruits on a trait that integrates both preference and performance, the number of adults y_{ijk} that emerged from a the i^{th} fruit treatment ($i = 1, \dots, 12$), from the j^{th} rack ($j = 1, \dots, 3$) and the tube at the k^{th} position ($k = 1, \dots, 6$) was assumed to follow a Poisson distribution with parameter $lambda_{ijk}$ that was modeled as follows:

$$\log(\lambda_{ijk}) = rack_i + fruit_j + pos_k + obs_{ijk} \quad (6)$$

where all terms are as defined above. This alternative and more simple modeling allows us to test the effects of fruit on the number of emerging adults integrating across differences in oviposition stimulation, emergence rate, and density dependence.

We tested for potential fruit effects by comparing two different models (with or without the fruit effect) using likelihood ratio tests (LRTs; for more details see Supp Appendix 2).

2.8 Fruit chemical composition

The chemical composition of the 12 fruit purees was determined by a private company (Cereco Laboratoire Sud, Garons, France). We obtained estimates for 18 different components (Supp Table S5), including energy, carbohydrate, protein, lipids, fibers, sodium, zinc, calcium, magnesium, iron, phosphorus, and ash (the latter component corresponding to residues obtained after heating so that water and organic materials such as fat and protein are removed). These 18 components are those classically studied in nutritional analysis and some of them have been previously shown to influence preference and performance traits in *D. suzukii* (e.g., sugar content; Lee et al., 2011a; Burrack et al., 2013). We also calculated the ratio of protein to carbohydrate (P:C ratio). A PCA was performed on the resulting 19 variables using the ‘ade4’ library (Thioulouse et al., 1997; Supp Fig. S4 and S5). The coordinates on the first PCA axis (PC1) were retrieved for each of the 12 fruits. They can be interpreted as a summary of the global chemical composition of the fruits because 36.24% of the variance was explained by this axis (Supp Figs. S4 and S5).

To understand the influence of the different chemical compounds on preference and performance traits, we adopted a three-step procedure. First, we calculated the Bayesian Information Criterion (BIC) of each of the previously selected models (i.e., most parsimonious models selected among the full models defined in Eq. 1, 2, 3 and 6 using either GLMMs (for the number of eggs in choice environment, the number of eggs in no-choice environment, emergence rate, and number

of adults) or survival analyses (for development time). In these comparisons of models, the interaction between fruit treatment and egg density was removed from equations 3–5 to focus on the effects of chemical compounds on performance traits. Second, for a given model, we estimated the BIC of the 20 alternative models that included each targeted variable (18 compounds, the P:C ratio and PC1 which is the coordinates of the first axis of the previous PCA) instead of the fruit effect. For the development time (5), only the scale parameter varied, the shape fruit parameter being the same for all the models. Third, we calculated the difference (Δ_{BIC}) between the BIC of each of the alternative models and the model with the (overall) fruit effect:

$$\Delta_{\text{BIC}} = \text{BIC}_{\text{model with compound effect}} - \text{BIC}_{\text{model with fruit effect}} \quad (7)$$

By definition, each compound considered individually cannot account for more trait variation than the fruit effect, which includes all the measured compounds plus others that were not measured. Hence, Δ_{BIC} is always positive. However, the smaller the Δ_{BIC} , the more variation among fruits is accounted for by the underlying compound. For each trait, the influence of each compound on this variation can hence be ranked based on Δ_{BIC} . Statistically, because the Δ_{BIC} provides a (rough) approximation to the Bayes Factor, its magnitude can also be interpreted in terms of strength of evidence in favor of one of the two models compared (Kass and Raftery, 1995). Therefore, if $\Delta_{\text{BIC}} < 6$, the variation in preference or performance explained by a given compound is comparable to that explained by the overall fruit effect (Jeffreys' rule, Jeffreys, 1961). Note, however, that even when Δ_{BIC} values are greater than 6, the underlying compound may still explain a substantial variation (but not all) of the fruits for the corresponding preference or performance traits. For each trait, the model with the lowest Δ_{BIC} actually reveals which of the studied compound studied explains most of the variation. Finally, when comparing two models including different chemical compounds, two models with a $\Delta_{\text{BIC}} > 6$ may be considered as significantly different Jeffreys, 1961.

3. Results

3.1 Does oviposition preference vary among fruits?

3.1.1 Oviposition in the choice environment

When given a choice in where to oviposit, eggs were laid non-randomly, indicating a significant effect of fruit on oviposition preference (LRT $\chi^2 = 273.13$, $\text{df} = 11$, $P < 0.001$; Fig. 1), even in the absence of skins of different thickness. A higher proportion of eggs was laid on blackberry, blackcurrant, and cherry than expected by random chance, indicating that those three fruits were preferred. In contrast, fig, kiwi, raspberry, grape, tomato, rose hips, apricot, cranberry, and strawberry were avoided (Fig. 1).

3.1.2 Oviposition in the no-choice environment

In the no-choice environment, there were also significant differences in the number of eggs laid among the different fruit media (LRT $\chi^2 = 138.24$, $\text{df} = 11$, $P < 0.001$, Fig. 2A). Blackcurrant and kiwi

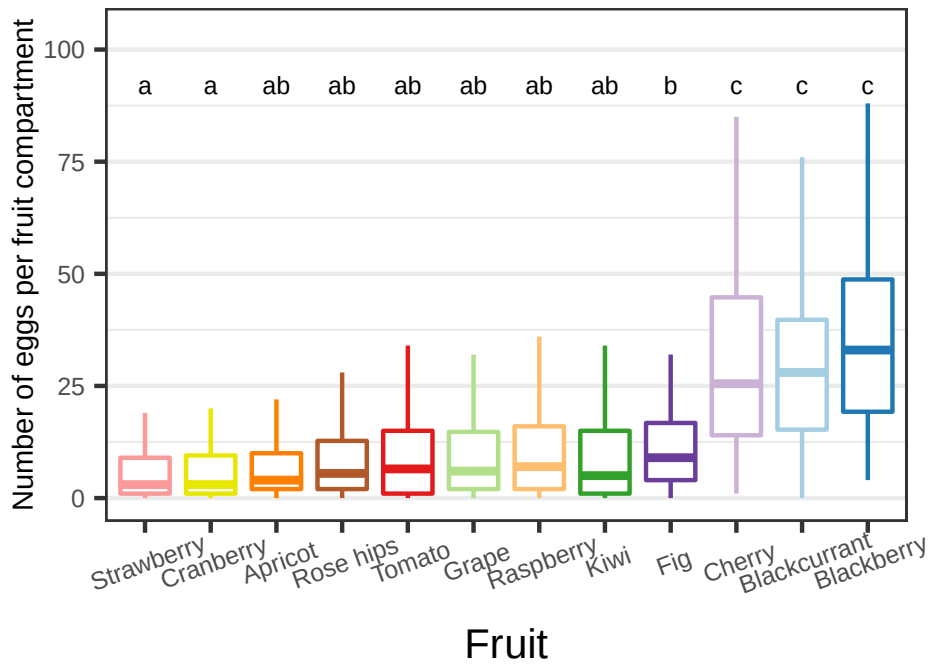


Figure 1 – Boxplot of the number of eggs laid in each fruit media in the choice environment. The different letters denote significant differences ($P < 0.05$, Tukey's post hoc test).

stimulated oviposition the most, while tomato and grape stimulated oviposition the least (Fig. 2A).

Interestingly, the ranking of fruit differed between oviposition in the choice environment and in the no-choice environment. Kiwi stimulated the most oviposition in the no-choice environment, but it was not among the preferred fruits in the choice environment. In contrast, cherry was preferred in the choice environment but did not strongly stimulate oviposition in the no-choice environment.

3.2 Does performance vary among fruits?

Emergence rate, number of adults and development time, were all significantly influenced by an interaction between fruit and egg density (Emergence rate: LRT $\chi^2 = 27.20$, $df = 11$, $P = 0.004$, Fig. 3A; Number of adults: LRT $\chi^2 = 28.99$, $df = 11$, $P = 0.002$, Fig. 3B; Development time: scale parameter LRT $\chi^2 = 224.15$, $df = 11$, $P < 0.001$ and shape parameter: LRT $\chi^2 = 69.89$, $df = 12$, $P < 0.001$, Fig. 4). Emergence rates declined with increasing density of eggs for most fruits except rose hips and apricot ($slope_{\text{rose hips}} = 0.007$, $se\ slope_{\text{rose hips}} = 0.018$ and $slope_{\text{apricot}} = 0.004$, $se\ slope_{\text{apricot}} = 0.008$ on logit scale, Fig. 3A). Despite competition among larvae, the more eggs there were in the tubes, the more adults emerged for every fruit except for blackcurrant ($slope_{\text{blackcurrant}} = -0.004$, $se\ slope_{\text{blackcurrant}} = 0.011$ on log scale; Fig. 3B). To better visualize the effect of egg density on development time, we plotted the estimated daily emergence rate in tubes for each of the two (low and high) egg density categories (Fig. 4). For some fruits, as apricot, cherry, and raspberry, the estimated daily emergence rate was not different between high and low egg densities. Conversely, for other fruits, the emergence probabilities differed considerably

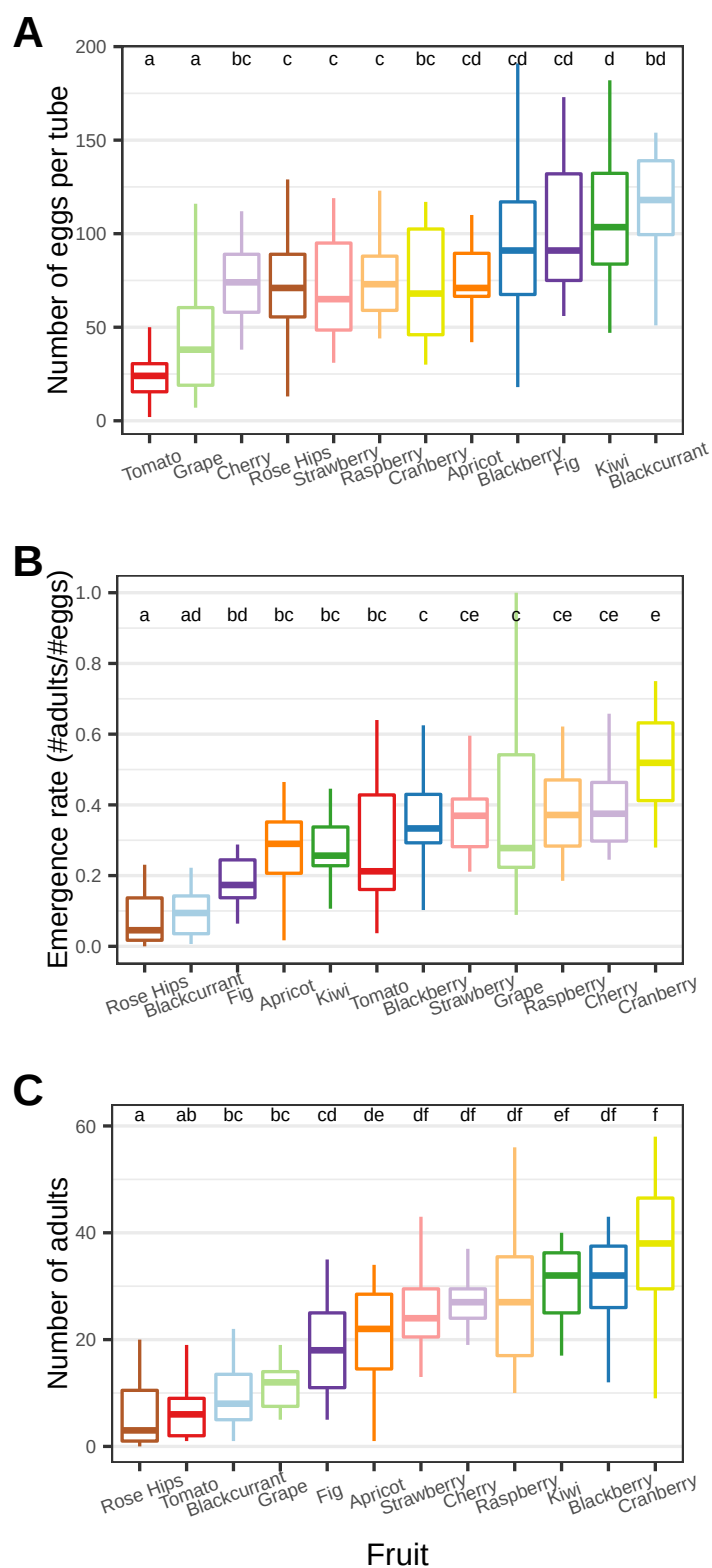


Figure 2 – Boxplot of (A) the number of eggs laid in each fruit media (no-choice environment), (B) emergence rate and (C) total number of adults emerged by fruit media. The different letters denote significant differences ($P < 0.05$, Tukey's post hoc test).

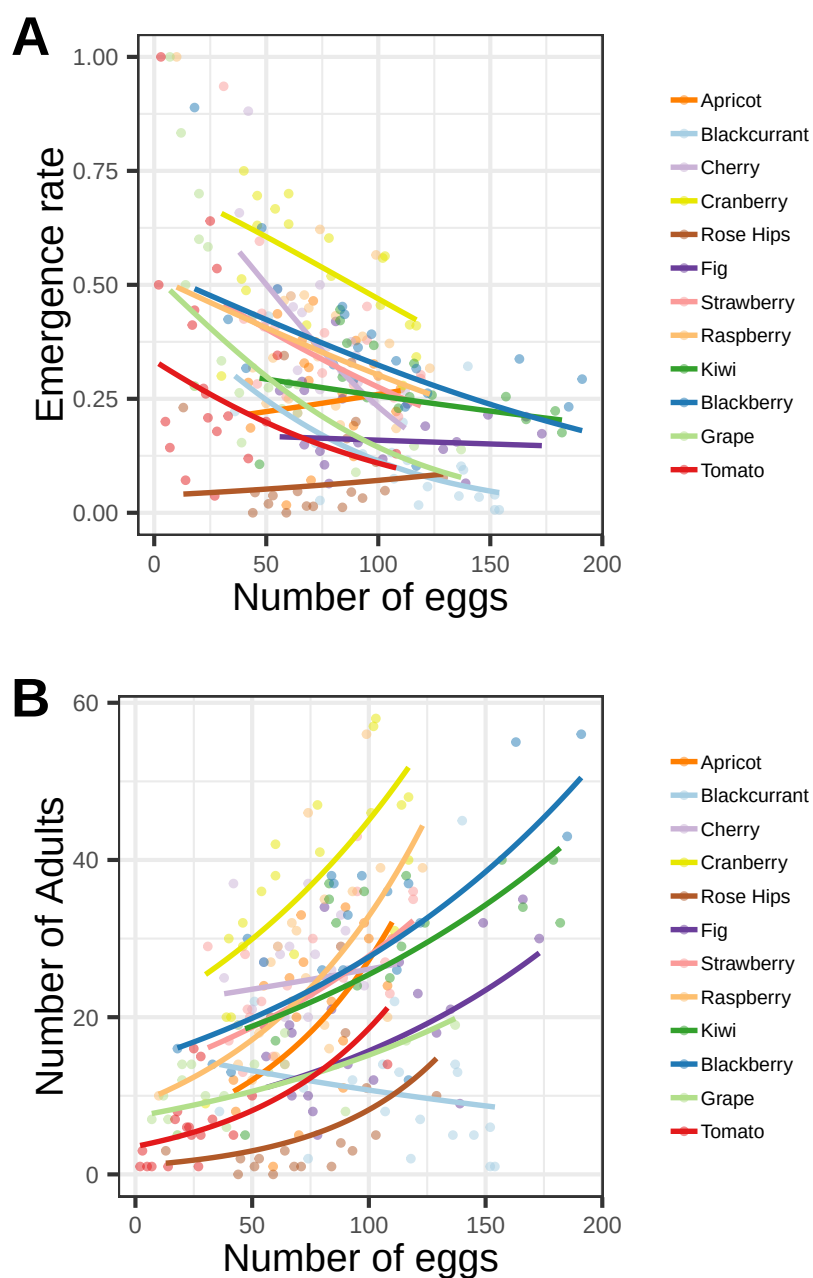


Figure 3 – Effect of egg density on performance for each fruit as measured by (A) the emergence rate and (B) the number of adults. Observed data are shown as small dots. The linear regression of the relation for each fruit media are shown as a solid line (equations 3 and 4).

for high and low egg densities but not in the same direction. The interaction is subtle but can be seen in the late emergence probabilities. For some fruits, as cranberry or strawberry, the late emergence probabilities are higher with high egg density than with low egg density. In contrast, for blackcurrant, *e.g.*, the late emergence probabilities are lower with high egg density than with low egg density.

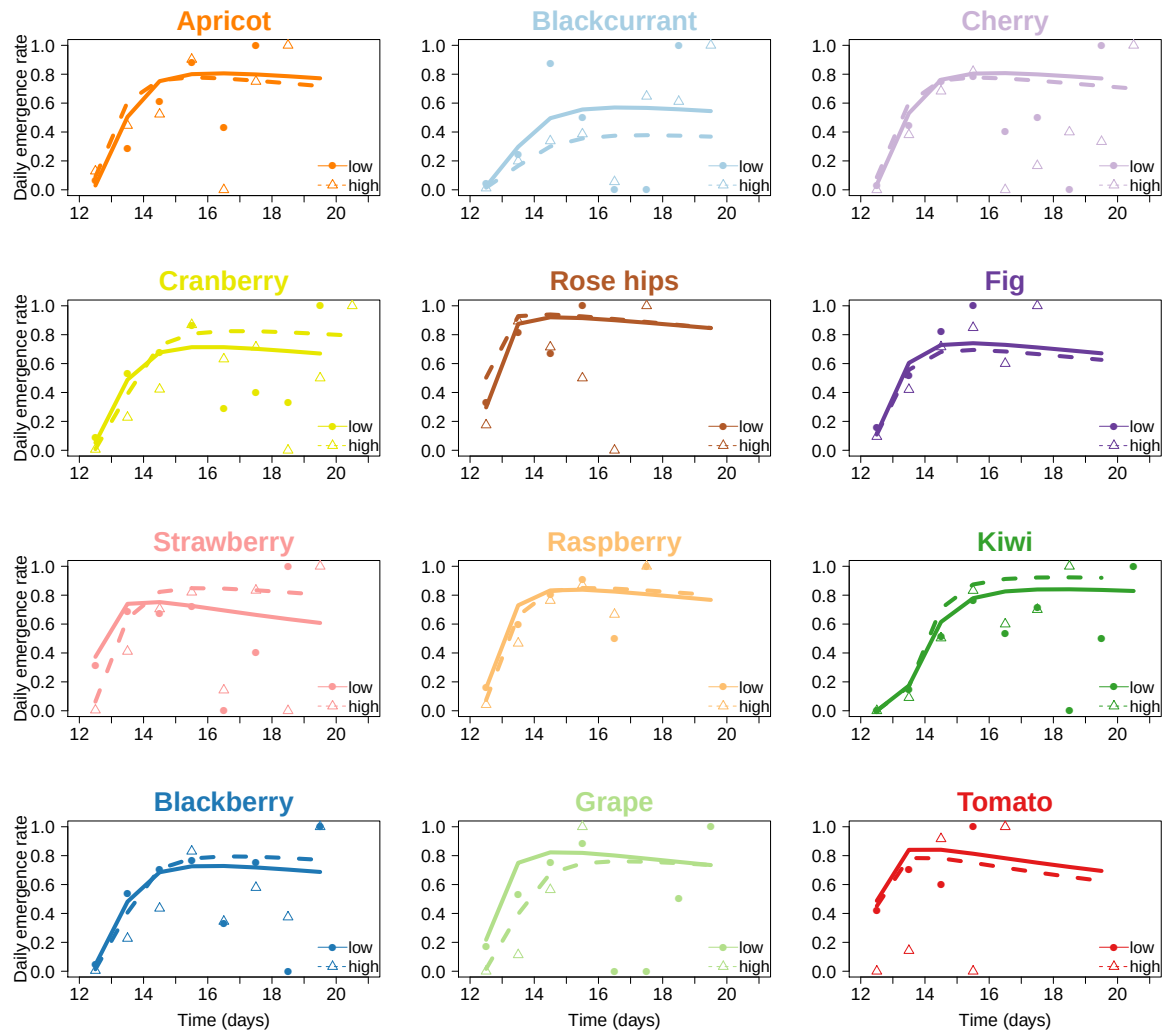


Figure 4 – Probability of emergence over time for each fruit medium. For each fruit, the daily emergence rate was calculated as the number of individuals emerging on a day, divided by the number of individuals that had not yet emerged. Lines represent the estimated daily emergence rate for each fruit. High and low egg densities correspond to a number of eggs laid higher or lower than the median of number of eggs laid for each fruit (high egg density: dotted lines and open triangles, low egg density: solid lines and solid circles). See section Statistical Analyses for details.

3.3 Relationship between preference and performance

Preference (number of eggs in the choice environment) and performance (emergence rate in the no-choice environment) were not correlated when considering either the raw data ($t = -0.282$, $df = 10$, $r = -0.089$, $P = 0.784$; Fig. 5) or the fitted effect of fruits, which accounted for differences in egg density among fruits ($t = 0.508$, $df = 10$, $r = 0.159$, $P = 0.622$). While some fruits were less preferred and produced many adults (e.g., cranberry and raspberry), other was highly preferred but did not produce many adults (e.g., blackcurrant). Similar results were obtained when considering the total number of adults rather than the emergence rate as the measure of performance ($t = 0.391$, $df = 10$, $r = 0.123$, $P = 0.704$ for observed data, and $t = 0.604$, $df = 10$, $r = 0.187$, $P = 0.560$ for fitted fruit effects accounting for differences in egg density).

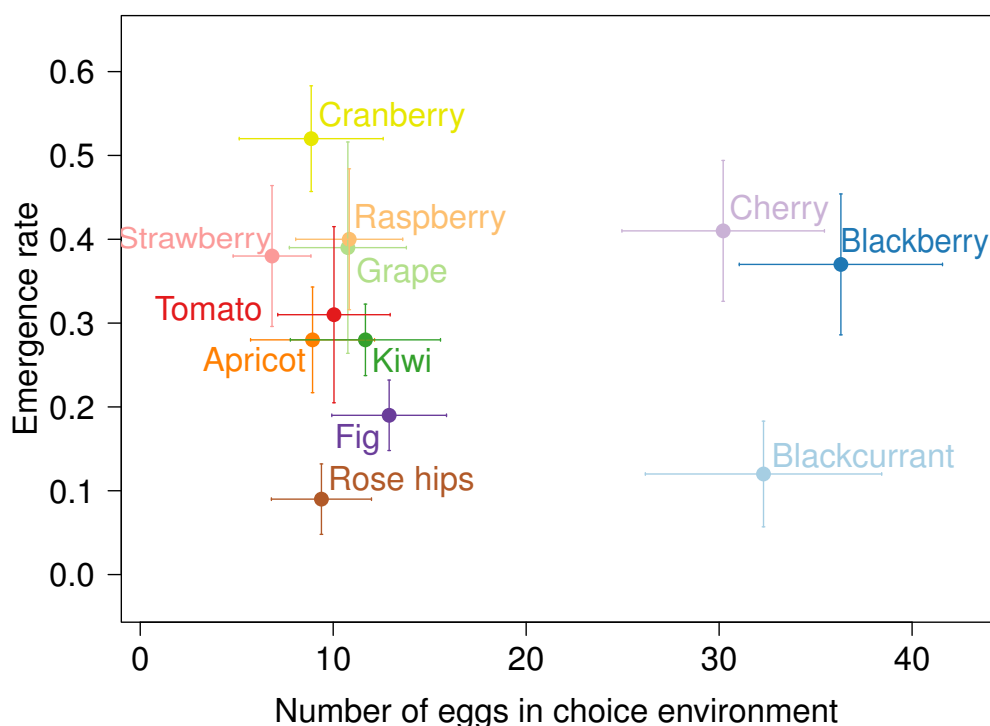


Figure 5 – Relationship between larval performance (emergence rate) and adult preference (number of eggs in choice environment) both calculated using observed data. The point represents the joint mean with 95% CI error-bars for each fruit. There is no significant correlation between preference and performance ($t = -0.282$, $df = 10$, $P = 0.784$, $r = -0.089$).

3.4 The influence of different compounds on preference and performance

When investigating the effect of chemical composition on oviposition in the choice environment, the models including the fruit effect or a phosphorus effect had $\Delta_{BIC} = 4.44$. Thus, phosphorus accounts for a large portion of the variation in oviposition preference among the different fruits (Fig. 6A). The number of eggs laid increased with the concentration of phosphorus in the fruits ($\rho = 0.692$, $S = 88$, $P = 0.016$). The three most preferred fruits (blackberry, blackcurrant, and cherry) had the most phosphorus (Supp Fig. S6). The alternative models that included other chemical compounds had little support ($\Delta_{BIC} \gg 6$) suggesting that those compounds have little influence on oviposition preference in a choice environment. We note, however, that among the other compounds, moisture content and amount of lipids had the second best ranking (Fig. 6A, Supp Table S6).

For the effect of chemical composition on oviposition in the no-choice environment, all the models including one chemical compound had $\Delta_{BIC} \gg 6$ relative to the model with the overall fruit effect, indicating that, individually, those compounds individually only weakly influenced the number of eggs laid in the no-choice environment (Fig. 6B). Among the compounds studied, those that account for most of the variation in the number of eggs among fruits were sodium and the ratio of protein to carbohydrate ($\Delta_{BIC(sodium)} = 51$ and $\Delta_{BIC(P:Cratio)} = 56$, respectively, with no significant difference between the two models including these two compounds: $\Delta_{BIC(P:Cratio)} -$

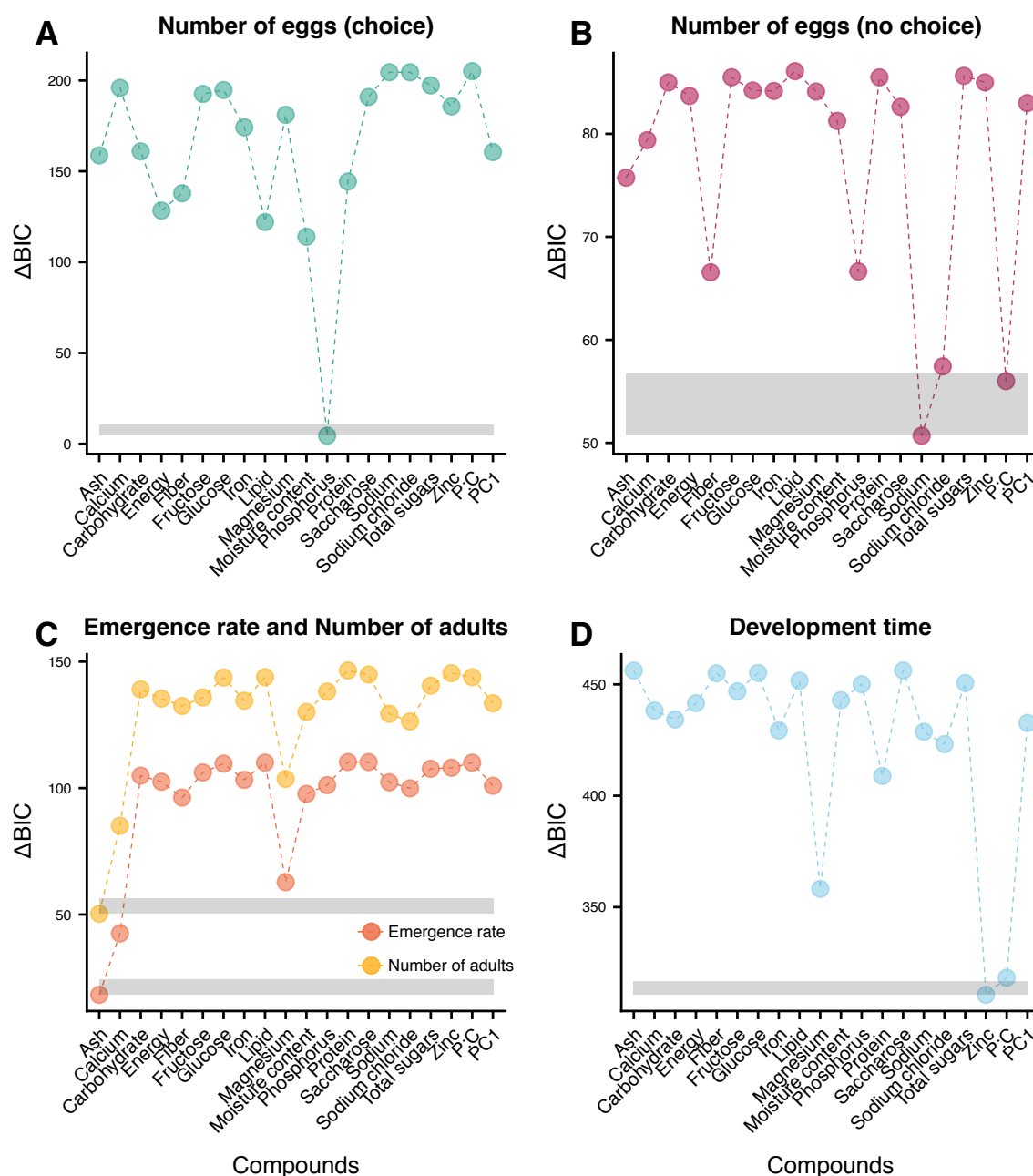


Figure 6 – Δ_{BIC} analysis for each nutrient compound. Δ_{BIC} allows a comparison of the model with the fruit effect and models including a single chemical compound (or the P:C ratio or the coordinates of the first PCA axis: PC1), for (A) the number of eggs laid in choice environment, (B) the number of eggs laid in no-choice environment, (C) the emergence rate and the number of adults, and (D) the development time. The best model is the one with the smallest Δ_{BIC} . Where the Δ_{BIC} of two models with a single compound is lower than 6, they are not significantly different. For each trait, the grey band highlights the statistical range including the best model (with the smallest Δ_{BIC}) and potentially all other models with a difference in $\Delta_{BIC} < 6$. See Material and Methods section for details.

$\Delta_{\text{BIC}(\text{sodium})} < 6$). Sodium chloride had the third highest ranking ($\Delta_{\text{BIC}(\text{Sodiumchloride})} = 57$, Fig. 6B, Supp Table S6).

For emergence rate, number of adults and development time, when compared to the model including the overall fruit effect, the models including a chemical compound displayed a $\Delta_{\text{BIC}} \gg 6$ suggesting that those compounds only weakly influence these traits (Fig. 6C and D). Among the compounds studied, the one that accounts for most of the variation in emergence rate was ash ($\Delta_{\text{BIC}(\text{Ash})} = 18$), followed by calcium and magnesium (Supp Table S6). The same was true for the number of adults, with ash accounting for most of the variation ($\Delta_{\text{BIC}(\text{Ash})} = 50$), followed by calcium and magnesium (Fig. 6C, Supp Table S6).

For all the studied traits (number of eggs in choice and no-choice environment, emergence rate, number of adults and development time), the model including PC1 (the linear combination of the 19 variables that explain most of the variation in chemical composition) was less supported for all the traits than several models with a single compound.

3.5 Review of the literature

Previously published studies considered many factors that could influence preference and/or performance, including whole fruits, purees, odors or artificial diets (Table 2, Supp Tables S4 and S3). Regarding oviposition preference, experiments were performed in choice or no-choice environments (Supp Table S4). For performance, several different measures were used including the number of adults that emerged, development time, or other morphometric measures (Supp Table S3).

Table 2 summarizes the main results that could be extracted from our literature review and compared with our own results. Raspberry appears to be the best host in terms of both preference and performance. The other top hosts for all the traits studied (oviposition preference and performance) were blackberry and strawberry, followed by cherry. On the other hand, both preference for and performance on grape were low. Overall, both preference and performance of blackcurrant were low, except in the experiment of this study (choice and no-choice). Rose hips and tomato were least tested and were always found at the end of the ranking.

Table 2 – Summary of results from the literature review. Each row presents the results from one experiment. Only the results of studies with at least three fruits in common with the 12 fruits studied here are presented. Traits shows what was measured and includes an attraction index, the number of eggs laid (Eggs) or adults that emerged (Adults), pupal survival (Pupal), development time (Time), adult mass (Mass), global performance (Perf.) calculated as a score from adult mass and development time, host ranking (Ranking) or emergence rate (Rate). Host indicates whether the experiment used fruits, purees or volatiles. Environment indicates if the research measured attack rates in the lab or in the wild. Choice indicates if flies had a choice of where to oviposit or not. Dif. stat. indicates whether or not differences in rankings between fruits was found to be statistically significant or not (yes/no, or NA (information not available)). The ranking of the fruits considered in each study is referenced with 1 for the best fruit to 12 for the worst fruit.

Traits	Hosts	Environment	Choice	Dif. Stat.	Raspberry	Blackberry	Strawberry	Cherry	Cranberry	Apricot	Fig	Kiwi	Blackcurrant	Grape	Rose hips	Tomato	References
Attraction	volatile	NA	yes	yes	1		1										Abraham et al., 2015
Attraction	volatile	NA	yes	no	1		2	3									Abraham et al., 2015
Attraction	volatile	NA	yes/ no	no	1		2	3									Abraham et al., 2015
Eggs	real	lab	yes	no	1	1	2						3				Aly, 2018
Eggs	real	lab	no	no	1	2	2						3				Aly, 2018
Eggs	puree	lab	yes	no	1	2	3						2				Aly, 2018
Eggs	puree	lab	no	no	1	2	3						3				Aly, 2018
Adults	real	lab	yes	no	1	2	3						4				Aly, 2018
Adults	real	lab	no	no	1	2	3						4				Aly, 2018
Adults	puree	lab	yes	no	1	2	2						4				Aly, 2018
Adults	puree	lab	no	no	1	4	3						2				Aly, 2018
Pupal	real	lab	yes	no	2	1	3						4				Aly, 2018
Pupal	real	lab	no	no	3	1	2						4				Aly, 2018
Pupal	puree	lab	yes	no	4	1	3						2				Aly, 2018
Pupal	puree	lab	no	no	1	2	4						3				Aly, 2018
Time	real	lab	yes	no	1	1	1						2				Aly, 2018
Time	real	lab	no	no	1	1	1						2				Aly, 2018
Time	puree	lab	yes	no	1	4	2						3				Aly, 2018
Time	puree	lab	no	no	1	2	3						3				Aly, 2018
Mass	puree	lab	no	no	1	3	4	2					5				Bellamy et al., 2013
Time	puree	lab	no	no	2	3	4	1					5				Bellamy et al., 2013
Attraction	puree	NA	yes	NA	1	2	3	4					5				Bellamy et al., 2013
Perf.	puree	lab	no	NA	2	3	4	1					5				Bellamy et al., 2013
Adults	puree	lab	yes	NA	2	4	1	3					5				Bellamy et al., 2013
Adults	puree	lab	yes	NA	2	3	1	4					5				Bellamy et al., 2013
Ranking	puree	NA	NA	NA	1	3	2	4					5				Bellamy et al., 2013
Adults	real	wild	no	yes	1	1	2										Burrack et al., 2013
Eggs	real	lab	no	no	1	3	2										Burrack et al., 2013
Rate	real	lab	no	yes	1	3	2										Burrack et al., 2013
Time	real	lab	no	no	1	3	2										Burrack et al., 2013
Adults	real	wild	no	NA	3	1		4			2			5			Kenis et al., 2016
Adults	real	lab	yes	no	2	3	1	4					5				Lee et al., 2011a
Rate	puree	lab	no	no	3	6	5	2	1	9	10	8	11	4	12	7	Present study
Time	puree	lab	no	no	3	1	10	7	9	8	5	11	12	6	1	2	Present study
Eggs	puree	lab	no	no	7	4	8	10	6	5	3	2	1	11	9	12	Present study
Adults	puree	lab	no	no	4	2	6	5	1	7	8	3	10	9	12	11	Present study
Eggs	puree	lab	yes	no	6	1	12	3	11	10	4	5	2	7	9	8	Present study
Eggs	real	lab	no	NA	2	1		3					4				Poyet et al., 2015
Larvae	real	lab	no	NA	2	1		3					4				Poyet et al., 2015
Adults	real	lab	no	NA	2	1		3					4				Poyet et al., 2015
Time	real	lab	no	NA	2	1		3									Poyet et al., 2015

4. Discussion

Understanding the host use of generalist agricultural pests, such as *D. suzukii*, is valuable to the development of sustainable management strategies by providing information to optimize the design of monitoring traps or identifying trap plants. Here, we found that preferences for fruits varied depending on the context. In the choice environment, three fruits (cherry, blackcurrant, and blackberry) were clearly preferred over the nine other assayed fruits (fig, strawberry, cranberry, apricot, tomato, rose hips, kiwi, grape, and raspberry). In the no-choice environment, differences among fruits were less clear. We observed a gradient from the fruits that stimulated oviposition the most (blackcurrant and kiwi and fig) to those that stimulated oviposition the least (tomato and grape). Overall, oviposition was high in both choice and no-choice environments for blackcurrant and, to a lesser extent, for blackberry. Conversely, oviposition on both grape and tomato were low. These results match only partly with the literature review. Blackberry is often reported to be preferred and tomato and grape avoided (Zuefle, 2012; Linder et al., 2014), as confirmed by our results. But in contrast to our observations in both choice and no-choice environments, blackcurrant tends to be a less preferred host in the field (Table 2). The differences in preference observed across studies might be explained by different experimental protocols (*e.g.*, whole fruits *vs.* fruit purees; Aly, 2018) or differences in the origin of the flies used in the experiments. If local populations are locally adapted to their host or if larvae plastically prefer the fruit they grew up in, observed preferences could vary depending on the host plant from which they are collected (as found in pea aphids, mites or in the Asian citrus psyllid another invasive species; Ferrari et al., 2006; Stockton et al., 2017; Fellous et al., 2014). The locations sampled in previous studies included in our review have different cropping regimes, which might have influenced preference. Also, *D. suzukii* microbiota is known to vary among populations (Martinez-Sañudo et al., 2018). Differences among these studies could also be explained by different associated microbial symbionts; which are known to influence host plant utilization (*e.g.*, larval development and survival) by herbivorous insects (Hansen and Moran, 2014; Bellutti et al., 2018).

Crop damage by *D. suzukii* is caused by larval feeding within the fruit, which along with the growth of microbes, cause it to become soft and rot rapidly, resulting in reduced crop yields and significant financial losses (Walsh et al., 2011). The damage in the field can be estimated in relation to economic losses (Bolda et al., 2010; Walsh et al., 2011) or directly by knowing the number of adults emerged from individual fruits (*e.g.*, Burrack et al., 2013). Our measures of performance were emergence rate, number of adults and development time. The number of adults was highest in cranberry, followed by blackberry, kiwi, raspberry, cherry, and strawberry. The high number of adults in raspberry and strawberry could explain damage in the field despite these fruits being less preferred in our study. These results highlight that some fruits are better for *D. suzukii* development than others which fit well with previously reported results. Indeed, cherries, raspberries and strawberries are often found to be the best hosts (*i.e.*, with the highest

rates of infestations; Lee et al., 2011c; Walsh et al., 2011) while rose hips and grapes are poor hosts (Linder et al., 2014). Tomato (a poor host in our study) and cranberry (a good host in our study) have been seldom studied in the literature (Steffan et al., 2013) so that it is difficult to assess whether performance measured in this study matches damage observed in the field for these fruits.

The effects of increased larval density, and therefore the potential for competition, vary across *Drosophila* species (Miller, 1986). *Drosophila melanogaster* development is slowed when density increases (Miller, 1964), and may even be stopped under intense competition (González-Candelas et al., 1990). *Drosophila simulans* may increase development time when the density increases, but there exists a threshold density above which further increases do not affect development time (Miller, 1964). In *Drosophila subobscura*, intraspecific competition affects the size of pupae and subsequent adults, resulting in fewer eggs per female, but does not affect development time (Jones et al., 1996). Hardin et al. (2015) showed that increasing egg density generally decreased *D. suzukii* larval survivor and that the magnitude of this impact varied across different diets. In the present study, the impact of egg density also depended on fruit.

Emergence rates generally decreased with the number of eggs for most fruit media due to larval competition. In one case, blackcurrant, this negative density dependence was so extreme that there was little to no emergence when at the highest egg density. In contrast, rose hips and apricot did not show negative density dependence in emergence rate, which always increased with the number of eggs. Several hypotheses might explain this positive effect of density on emergence. Larvae could be better able to access nutrients in the medium at high densities. Higher larval densities might be associated with higher bacterial densities, which might allow larvae to have better access to bacterial recycled nutrients, thereby resulting in more effective nutrient absorption (Liu et al., 2008; Barragan-Fonseca et al., 2018; Douglas, 2009). High densities of eggs also represent additional sources of protein: the earliest to hatch can potentially improve their survival through cannibalism of eggs and younger larvae. Higher densities might also produce higher temperatures that enhance food assimilation (Green et al., 2002; Rivers and Dahlem, 2013). Another possible hypothesis is that larvae in groups might be better at controlling microbial competitors than single larvae (Hoffmeister and Rohlf, 2001). In *D. melanogaster*, such an effect has been reported from artificial resources under experimental conditions (Bakker, 1962; Hoffmeister and Rohlf, 2001). The nutritional value of rose hips and apricot media might also be low compared to other media, as emergence rates at low egg densities in these media were lower than in other fruit media. (Barragan-Fonseca et al., 2018) found also a positive effect of high density of the black soldier fly larvae in low nutrient concentration medium, revealing an interaction between larval density and dietary quality. When individuals are tested at lower nutrient concentration, higher larval density resulted in higher individual larval weight and total larval yield (Barragan-Fonseca et al., 2018).

Despite competition among larvae detected for most of the fruits we studied, the number of

adults increased with the number of eggs for all fruit media except blackcurrant. For blackcurrant, this relationship does not hold: with increasing egg density, fewer adults emerged. The negative density dependence observed in the number of adults suggests that larval competition in blackcurrant is particularly strong at the highest egg density. A larval competition very strong at high egg densities has been observed in *D. melanogaster* (Moya and Botella, 1985). There is now a good evidence that waste products from larval excretion as nitrogenous wastes, accumulate in food media might be toxic above certain concentrations (Botella et al., 1985, reviewed by Ashburner et al., 2005).

The mother knows best hypothesis predicts that females should prefer to lay eggs in the fruits that confer the highest fitness of their offspring (Jaenike, 1990; Thompson, 1988). A positive correlation between preference and performance has been observed in many insect species (Futuyma and Moreno, 1988; Poore and Steinberg, 1999; Gripenberg et al., 2010). We did not find this correlation in *D. suzukii*. Emergence rates were low in some of the fruits the females prefer to oviposit in. For example, blackcurrant is preferred in a choice environment and strongly stimulates oviposition in the no-choice environment, despite low emergence rates on this fruit. Conversely, emergence rates were high on some of the fruits that were less preferred (e.g., cranberry). However, this absence of relationship between oviposition preference and performance should be interpreted with caution. The fruit flesh alone, as studied here using fruit purees, is necessary but not sufficient to fully understand the use of fruits in the field by *D. suzukii*. In particular, the skin and structure of the fruits are not taken into account when using fruit purees, but will clearly affect host use (e.g., Burrack et al., 2013; Poyet et al., 2015). For instance, a fruit eliciting strong oviposition preference when tested with an artificial puree medium may not necessarily be preferred in nature, especially if its skin is difficult to pierce with the ovipositor (e.g., kiwi). Similarly, microorganisms are not considered in this setup, yet they can play an important role in host use (Bellutti et al., 2018).

Consistent with a previous study performed in the field (Poyet et al., 2015), we did not find any correlation between preference in the choice environment and emergence rate. This suggests that the fruits of some host species are highly attractive as oviposition sites, despite adult emergence rates from these fruits being low. Poyet et al., 2015 suggested using these plants as biological traps by planting them around crops targeted by *D. suzukii*. These trap plants (e.g., blackcurrant) may lure the fly as they induce oviposition but do not allow the full development of larvae (Poyet et al., 2015).

We investigated whether chemical compounds found in the fruit might be associated with variation in preference or performance among fruits. Interestingly, we found that phosphorus was highly associated with preference (number of eggs laid) in the choice environment. The role of this compound is not known in *D. suzukii* because it has never been studied in this context yet. However, phosphorus is important for female reproduction in other *Drosophila* species (Markow et al., 1999). All the eggs produced by a *D. melanogaster* female over its lifetime contain 50

times more phosphorus than its own body (King and Wilson, 1955). Phosphorus turnover is also faster in females than in males in both *D. melanogaster* and *D. simulans* (King, 1954). Although interesting per se, testing for a causal relationship between phosphorus concentration and female preference is beyond the scope of this study. Further experimental studies are needed to shed light on the effect of phosphorus on female behavior in *D. suzukii* and other non-pest *Drosophila* species. If the influence of this chemical compound on *D. suzukii* oviposition preference is verified, management of *D. suzukii* in the field could be improved by using phosphorus-baited traps (or fruit rich in phosphorus as blackcurrant).

Another interesting finding from the present study is that ash content might influence the number of adults and emergence rate. Ash corresponds to a set of essential minerals such as calcium, potassium, and zinc. Different minerals appear to influence different traits. For example, sodium is weakly associated with the variation of the number of eggs in no-choice environment and zinc with development time. This indicates that it is worth studying each compound for different traits because their influence can be different according to the trait. However, assessing the effects of each macronutrient independently of the others is not trivial because they operate not only simultaneously but also interactively (Simpson et al., 2015b). For example, adding a specific macronutrient to the diet not only increases its own content but also alters the relative balance between the macronutrients in the diet (Jang and Lee, 2018).

Proteins and carbohydrates are known to be the two macronutrients that are the most important for growth, reproduction, and survival in insects (Carrel and Tanner, 2004; Andersen et al., 2010; Jensen et al., 2015; May et al., 2015; Lihoreau et al., 2016; Rodrigues et al., 2015). However, we found that some other specific chemical compounds were more strongly associated with these traits than was the protein/carbohydrate ratio, for the majority of variables studied here (number of eggs in choice environment, emergence rate, and number of adults). In our experimental setup, inactivated yeast extract was added to the medium (yeast as a protein source to allow the larvae to develop; Tu and Tatar, 2003; Bellutti et al., 2018). In the field, protein is made available through the growth of yeast and bacteria as larvae feed. We replaced those natural sources of protein, largely through the addition of yeast extract. We reduced the amount of yeast from what is normally in *Drosophila* medium to maximize the role of fruit in both preference and performance, but nonetheless, a substantial amount protein was added relative to the quantities originally present in the fruits. This likely overwhelmed natural differences among fruits in protein content and protein/carbohydrate ratios. As we added the same supplements to each fruit medium, the results should be nevertheless unbiased.

In all traits studied, except the number of eggs in the choice environment, we found that the fruit effect explained the variation in preference and performance better than any of the individual or combined compounds. However, some important fruit compounds are not considered in our analyses, especially olfactory and visual cues involved in host detection. For example, chemoreception of volatile compounds can affect oviposition choices of *D. suzukii* (Abraham

et al., 2015; Karageorgi et al., 2017). Further studies will be needed to test for the effect of such volatile organic compounds on preference and performance.

5. Conclusion

In conclusion, we found that emergence rates in the lab were higher for cranberry and cherry in *D. suzukii*, in agreement with observations in the field (Walsh et al., 2011). We also found that under controlled laboratory conditions, female preference and adult emergence rate were not correlated, confirming previous studies in the field and supporting the use of trap plants to manage *D. suzukii* (Poyet et al., 2015). Finally, we found that female preference was strongly associated with fruit phosphorus concentration, opening the way to a new approach of trapping. Overall, our results open up new avenues for the design of new *D. suzukii* management strategies.

Acknowledgments

L.O., J.E., M.G., and A.E. were supported by the Languedoc-Roussillon region (France) through the European Union program FEDER FSE IEJ 2014– 2020 (project CPADROL), the INRA Scientific Department SPE (AAP-SPE 2016), and the National Research Fund ANR (France) through the project ANR-16-CE02-0015-01 (SWING). R.A.H. acknowledges support from the National Science Foundation (DEB-0949619), USDA Agriculture and Food Research Initiative award (2014-67013-21594), Hatch project 1012868, the French Agropolis Fondation (LabEx Agro-Montpellier) through the AAP ‘International Mobility’ (CfP 2015-02), the French programme investissement d’avenir, and the LabEx CEMEB through the AAP ‘invited scientist 2016’. N.O.R. acknowledges support from the CeMEB LabEx/University of Montpellier (ANR-10-LABX-04-01). V.R. received support from the European Union: European Regional Development Fund (ERDF) and the Conseil Régional de la Réunion. We also thank the Sicol cooperative for providing us with some fruit purees, and the FREDON Languedoc Roussillon and CTIFL for useful discussions regarding the importance of *D. suzukii* damages on different fruits.

Supplementary materials

Appendix 1: Literature search

We conducted a systematic review of research of published studies dealing with host preference and larval performance in *Drosophila suzukii*. We searched all databases in Web of Science on October 2018 for the term 'drosophila suzukii' in the title. Among these studies we selected five subsets of papers in which: (i) the terms 'oviposition preference' AND 'larval performance' were in the title, abstract or keywords (search 1); (ii) the terms 'fruit' was present in the title AND 'preference' OR 'performance' were present in the title, abstract and keywords (search 2); (iii) the terms 'host use' AND 'fruit' AND 'niche' were present in the title, abstract or keywords (search 3); (iv) the terms 'host crop' OR 'host use' was present in the title (search 4); (v) the terms 'fruit' was present in the title AND 'attractant' AND 'host' were present in the title, abstract or keywords (search 5); and (vi) the terms 'crop' AND 'larval performance' were present in the title, abstract and keywords (search 6). All together these six literature searches pointed to a total of 26 studies. Four studies (Pajac Zivkovic et al., 2018; Cha et al., 2018; Zerulla et al., 2017; Woltz et al., 2017) were rejected after visual inspection because they did not focus on the effect of host (one or several fruits or media) on larval performance or oviposition preference. Finally, one study (Aly, 2018) not yet referenced on Web of Science but mentioned by collaborators was included in our literature review. We therefore ended up with 23 studies retained for our literature review.

Appendix 2: Statistical analyses

For the six models (Equations 1, 2, 3, 4, 5 and 6 in the main text), we used a model selection approach based on likelihood ratio tests (LRT) to remove effects that were not of inherent interest and were non-significant, thereby obtaining the most parsimonious model. We first assessed the significance of the rack and position (environment) effects by comparing the likelihood L_0 of the full model to that of the model, without the corresponding environment effect, L_f . For models 3, 4 and 5, the interaction terms were tested by comparing the likelihood L_0 of the full model to that of the model without them L_{f0} . After this selection, for all models not including an interaction term (1, 2 and 6), the significance of the fruit effect was assessed by comparing the likelihood L_0 of the full model to that of the model without the fruit effect L_f assuming that $-2\ln(L_f/L_0)$ follows a χ^2 distribution with 11 degrees of freedom (except for survival analysis where the fruit effects was tested on both the scale and shape parameters). For GLMER analyses (models 1, 2, 3, 4 and 6), a post-hoc test (Tukey's range test) was used to identify groups of fruits that were significantly different, using the "lsmeans" package (Lenth 2016).

Supplementary tables

Table S1 – Key informations about the 12 fruits purees used in the experiments carried out in the present study. All purees were produced by private society mentioned in “Supplier”, and can be precisely identified with the code given as “Reference”. All purees were obtained by mixing fruits picked at optimal maturity in the wild or with conventional agriculture. The “Varieties,” “Country” of origin and “State” of fruits at the time of reception by the supplier are mentioned, as well as the “Production method” used” by the supplier to produce purees. Production methods were adapted to each fruit to preserve the organoleptic qualities of the fresh fruit. Each fruit puree contents 100% of the fruit flesh, without added sugar, artificial colouring or preservatives or any product to add texture. Finally, for all fruit purees, the potential amount of contaminations, pesticides or radioactivity were in conformity with the legal requirements.

Fruit	Supplier	Reference	Varieties	Country	State	Production method
Tomato	Sicoly	PUTO01XC02	Daniela y Roma	Espagne	frozen	ohmic heatic
Grape	La Fruitiere	3012034000	Muscat rouge	France	frozen	tubular pasteurization
Blackberry	Sicoly	BIMU60-62-63	Wild	Serbia/Poland	frozen	cold working
Kiwi	Boiron	669	Hayward	France	frozen	cold working
Raspberry	La Fruitiere	3012018002	Willamette	Serbia	frozen	tubular pasteurization
Strawberry	La Fruitiere	3012016002	Several	Spain/Morocco/Serbia/South America	frozen	tubular pasteurization
Fig	La Fruitiere	3012015000	Violette	France/Spain	fresh	tubular pasteurization
Rose hips	Sicoly	PUEG01	Wild	France	NA	ohmic heatic
Cherry	Boiron	561	Black cherry	France, Germany	frozen	flash pasteurization
Blackcurrant	La Fruitiere	3012009002	Black down/Andorine	France	fresh	tubular pasteurization
Cranberry	Sicoly	PUCB01	cultivée	USA/Canada	frozen	ohmic heatic
Apricot	Sicoly	PUAB02	Bergeron	France	fresh	ohmic heatic

Table S2 – Recipe and reference of products used to make experimental fruit media. The agar was heated at high temperature to melt and was cooled below 50°C before adding other ingredients hence maintaining their original quality. NA = reference not available.

Product	Volume	Units	Reference	Supplier
Fruit puree	600	ml	Table 1	Table 1
Osmotic water	400	ml	NA	Lab production
Agar	10	g	20768.361	Vwr
Inactive brewer's yeast	60	g	25108,10,3	Biocoop
Inactive yeast extract	15	g	SI-92144-5KG-F	Analytic lab
Alcohol	10	ml	78 602 005	Meridis
Nipagin	1	g	SI-H5501-500G	Analytic lab
Propionic acid	6	ml	8.00605.2500	Vwr

Table S3 – Review of the literature on the performance associated with host use by *D. suzukii* in laboratory experiments or field studies. In the literature experiments, the host may be represented by real fruits (“fruit”) or under artificial conditions by artificial diet varying in protein, carbohydrate or caloric content (“artificial”) or by artificial medium from fruit purees (“puree”). The number of host studied (fruits or conditions) is represented by the number in the “No. of fruits or types” column. Different fitness measures have been used such as a proxy of fecundity with the number of “eggs”, a proxy of survival with the number of “adults” emerging, the development “time” with the duration of each stage development, and the measure of different morphological traits including body “size” (or adult mass).

Study condition	Substrate			No. of hosts	Fitness measures				References
	Fruit	Puree	Artificial		Eggs	Adults	Time	Size	
Laboratory	x			6		x	x		Aly (2018)
		x		6		x	x		Aly (2018)
	x			6		x			Arnó et al. (2016)
		x		7		x			Bellamy et al. (2013)
		x		7		x	x	x	Bellamy et al. (2013)
			x	8		x	x		Bellutti et al. (2018)
			x	9		x	x	x	Bellutti et al. (2018)
	x			2	x	x			Briem et al. (2016)
	x			4		x	x		Burrack et al. (2013)
	x			2	x	x	x		Diepenbrock et al. (2016)
			x	4		x	x		Hardin et al. (2015)
	x		x	2	x	x	x	x	Jaramillo et al. 2015
	x			6	x	x			Lee et al. (2011b)
	x			20		x			Lee et al. (2015)
	x			5	x	x			Little et al. (2017)
		x		12	x	x	x		Present study
	x			9	x	x	x		Pelton et al. (2016)
	x			67		x	x		Poyet et al. (2015)
			x	24	x	x	x	x	SSilva-Soares et al. (2017)
			x	8	x	x			Young et al. (2018)
Field	x			17		x			Arnó et al. (2016)
	x			2		x			Briem et al. (2016)
	x			19		x			Burrack et al. (2013)
	x			2	x	x			Diepenbrock et al. (2016)
	x			12		x			Elsensohn and Loeb (2018)
	x			116		x			Kenis et al. (2016)
	x			3		x			Lasa et al. (2017)
	x			61		x			Lee et al. (2015)
	x			12		x			Lee et al. (2016)
	x			6		x			Pelton et al. (2016)

Table S4 – Review of the literature dealing with the study of the preference associated to host use by *D. suzukii*. The experiments correspond to “no choice” or “choice” environments. The condition studied can be the comparison between different “fruits” or varieties, the chemical “composition” of the host, the “state” of development of the fruit, the “firmness” of the fruit or the effect of “microorganism”. The host may be represented by real fruits (“fruit”) or under artificial conditions by artificial medium from fruit purees (“puree”) or by artificial diet varying in protein, carbohydrate or caloric content (“artificial”), or just by the odors of the fruit (“odors”). The number of conditions studied in the experiment is represented by the number in the “No. of treatments” column. The preference have been measured by the number of “eggs” laid, by an “attraction” index or by the number of “adults” emerging.

Experiment type	Focus of tests	Substrate				No. of treatments	Measure	References
		Fruit	Puree	Artificial	Odors			
No choice	Fruit	x				6	Eggs	Aly (2018)
			x			6	Eggs	Aly (2018)
			x			7	Adults	Bellamy et al. (2013)
		x				4	Eggs	Burrack et al. (2013)
		x				19	Eggs	Burrack et al. (2013)
		x				4	Eggs	Diepenbrock et al. (2016)
		x		x		2	Eggs	Jaramillo et al. (2015)
		x				6	Eggs	Lee et al. (2011b)
		x				20	Eggs	Lee et al. (2015)
		x				8	Eggs	Little et al. (2017)
	Composition		x			12	Eggs	Present study
		x				67	Eggs	Poyet et al. (2015)
			x			2	Eggs	Karageorgi et al. (2017)
				x		6	Ingestion	Silva-Soares et al. (2017)
				x		8	Eggs	Young et al. (2018)
	State of fruit	x				6	Adults	Arnó et al. (2016)
		x				2	Eggs	Briem et al. (2016)
		x				3	Eggs	Diepenbrock et al. (2016)
		x				2	Eggs	Karageorgi et al. (2017)
		x				2	Ingestion	Karageorgi et al. (2017)
					x	6	Attraction	Keesey et al. (2015)
		x				34	Eggs	Lee et al. (2011b)
		x				2	Eggs	Pelton et al. (2016)
	Firmness			x		4	Eggs	Burrack et al. (2013)
		x				3	Adults	Lasa et al. (2017)
		x				34	Eggs	Lee et al. (2011b)
	Odor				x	1	Eggs	Karageorgi et al. (2017)
	Microorganism	x				7	Eggs	Bellutti et al. (2018)

Table S4 – Continued

Experiment type	Focus of tests	Substrate				No. of treatments	Measure	References
		Fruit	Puree	Artificial	Odors			
Choice	Fruit		x			2	Attraction	Abraham et al. (2015)
			x			2	Attraction	Abraham et al. (2015)
			x			4	Attraction	Abraham et al. (2015)
			x			4	Attraction	Abraham et al. (2015)
		x				6	Eggs	Aly (2018)
			x			6	Eggs	Aly (2018)
			x			7	Adults	Bellamy et al. (2013)
			x			7	Attraction	Bellamy et al. (2013)
		x				4	Eggs	Burrack et al. (2013)
		x				19	Eggs	Burrack et al. (2013)
		x				4	Eggs	Diepenbrock et al. (2016)
			x			4	Attraction	Lasa et al. (2017)
		x				6	Eggs	Lee et al. (2011b)
		x				14	Eggs	Lee et al. (2015)
		x				7	Attraction	Little et al. (2017)
			x			12	Eggs	Present study
	Composition			x		3	Eggs	Silva-Soares et al. (2017)
				x		24	Ingestion	Silva-Soares et al. (2017)
				x		8	Attraction	Young et al. (2018)
				x		8	Eggs	Young et al. (2018)
	State of fruit	x				6	Adults	Arnó et al. (2016)
		x				3	Eggs	Karageorgi et al. (2017)
		x				2	Attraction	Karageorgi et al. (2017)
			x			2	Eggs	Karageorgi et al. (2017)
			x			2	Eggs	Karageorgi et al. (2017)
		x				6	Attraction	Karageorgi et al. (2017)
		x				34	Eggs	Lee et al. (2011b)
		x				3	Eggs	Lee et al. (2016)
		x				3	Eggs	Lee et al. (2016)
		x				5	Eggs	Lee et al. (2016)
	Firmness	x				5	Eggs	Lee et al. (2016)
				x		4	Eggs	Burrack et al. (2013)
				x		8	Eggs	Karageorgi et al. (2017)
		x				34	Eggs	Lee et al. (2011b)
		x				3	Eggs	Lee et al. (2016)
		x				3	Eggs	Lee et al. (2016)
		x				5	Eggs	Lee et al. (2016)
		x				5	Eggs	Lee et al. (2016)
				x		3	Eggs	Silva-Soares et al. (2017)

Table S5 – Variables of the chemical composition of fruit media used in PCA analysis. The ash is the measure of residues obtained after heating so that water and organic materials such as fat and protein are removed. The measure of total sugars is the sum of measures of fructose, glucose, saccharose, maltose and lactose. The measure of carbohydrates is the sum of measures of these sugars (total sugar) and all the other carbohydrates (*e.g.*, amidon or polyols).

Variables	Units
Moisture content	g/100g
Ash	g/100g
Protein	g/100g
Lipid	g/100g
Total food fibre	g/100g
Carbohydrate	g/100g
Energy	kcal/100g
Fructose	g/100g
Glucose	g/100g
Saccharose	g/100g
Total sugars	g/100g
Sodium : Na	mg/100g
Sodium chloride : NaCl	g/100g
Zinc : Zn	mg/kg
Calcium : Ca	mg/kg
Magnesium : Mg	mg/kg
Iron : Fe	mg/kg
Phosphorus : P	mg/kg

Table S6 – Ranking of Δ BIC values to compare the model with a given compound and the model with the fruit effect. Δ BIC values are given for the number of eggs laid in the choice environment, the number of eggs in the no choice environment, the emergence rate, the number of adults emerging and the development time.

Compound	Δ BIC Nbr of eggs (choice environment)	Compound	Δ BIC Nbr of eggs (no choice environment)
Phosphorus	4	Sodium	51
Moisture content	114	P:C	56
Lipid	122	Sodium chloride	57
Energy	128	Fiber	67
Fiber	138	Phosphorus	67
Protein	144	Ash	76
Ash	159	Calcium	79
PC1	160	Moisture content	81
Carbohydrate	161	Saccharose	83
Iron	174	PC1	83
Magnesium	181	Energy	84
Zinc	186	Magnesium	84
Saccharose	191	Iron	84
Fructose	193	Glucose	84
Glucose	195	Carbohydrate	85
Calcium	196	Zinc	85
Total sugars	197	Protein	85
Sodium chloride	205	Fructose	85
Sodium	205	Total sugars	86
P:C	205	Lipid	86

Compound	Δ BIC Emergence rate	Compounds	Δ BIC Nbr of adults	Compound	Δ BIC Development time
Ash	18	Ash	50	Zinc	311
Calcium	43	Calcium	85	P:C	318
Magnesium	63	Magnesium	104	Magnesium	358
Fiber	96	Sodium chloride	126	Protein	409
Moisture content	98	Sodium	129	Sodium chloride	423
Sodium chloride	100	Moisture content	130	Sodium	429
PC1	101	Fiber	132	Iron	429
Phosphorus	101	PC1	134	PC1	433
Sodium	102	Iron	135	Carbohydrate	434
Energy	102	Energy	135	Calcium	438
Iron	103	Fructose	136	Energy	442
Carbohydrate	105	Phosphorus	138	Moisture content	443
Fructose	106	Carbohydrate	139	Fructose	447
Total sugars	108	Total sugars	140	Phosphorus	450
Zinc	108	Glucose	144	Total sugars	451
Glucose	110	P:C	144	Lipid	452
P:C	110	Lipid	144	Fiber	455
Lipid	110	Saccharose	145	Glucose	455
Saccharose	110	Zinc	145	Ash	456
Protein	110	Protein	147	Saccharose	456

Supplementary figures

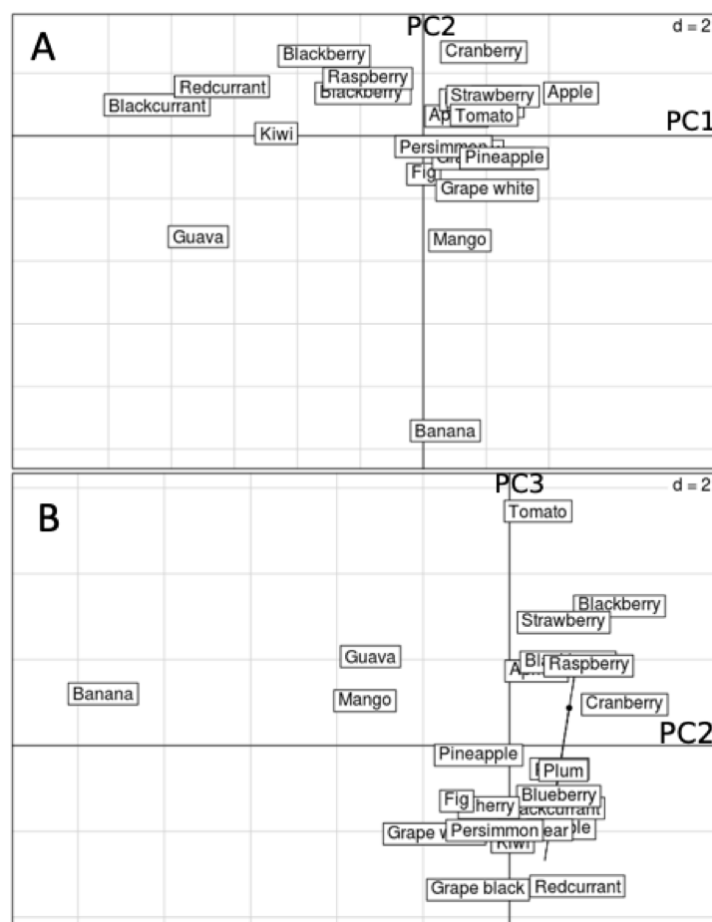


Figure S1 – Principal component analysis of the chemical composition of fruits. The fruit compositions relies on the database Ciqual which has been produced by the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health and Safety (ANSES). PCA axes 1 and 2 are shown in the panel A and PCA axes 2 and 3 are shown in the panel B.

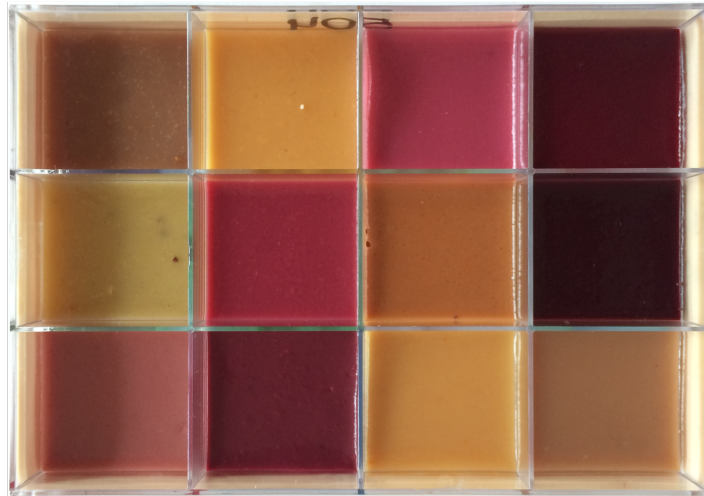


Figure S2 – Photograph of an arena used as an experimental 12 fruits-choice environment.



Figure S3 – Photograph of tubes with different fruit media used in no-choice environment experiments.

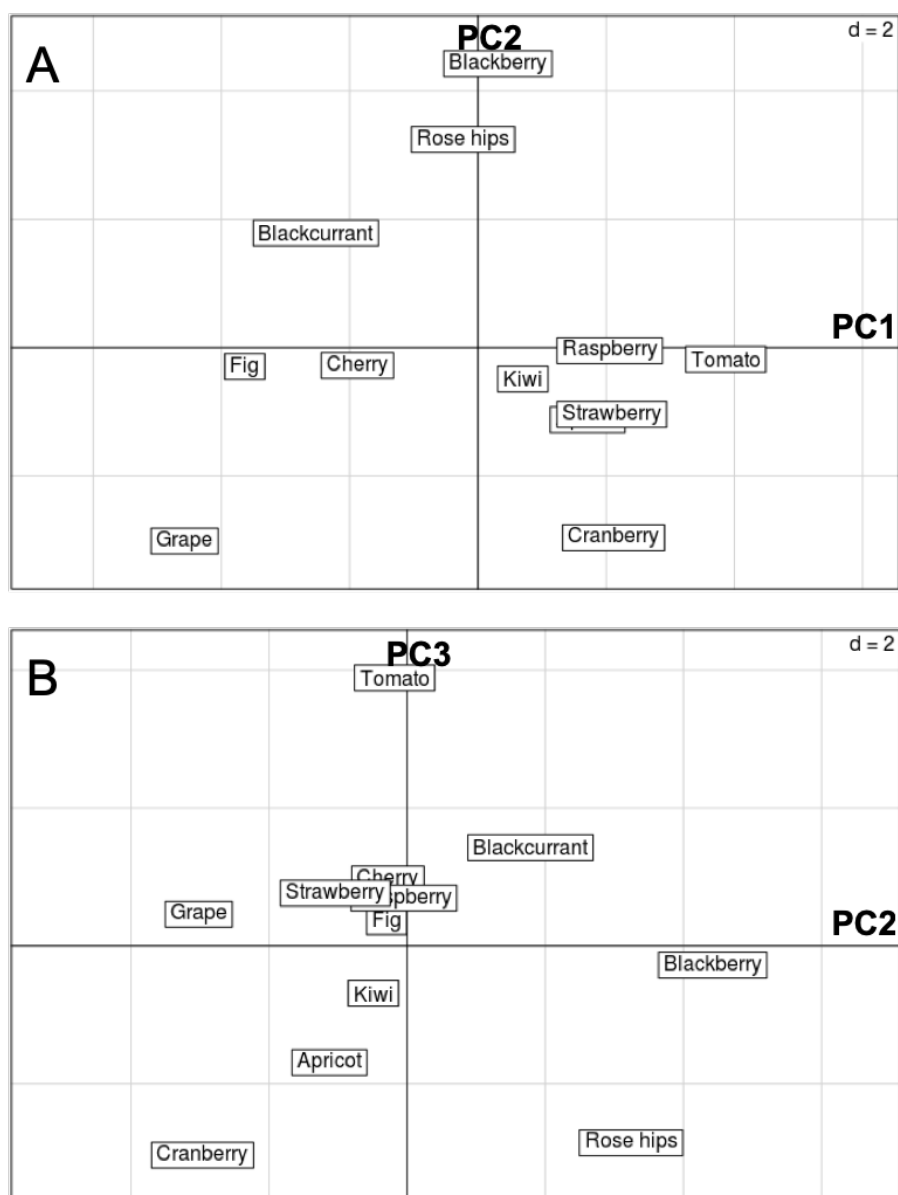


Figure S4 – Principal component analysis of the chemical composition of the 12 purees of fruits. The nutritional composition of the 12 purees of fruits was determined by a private company (Cereco Laboratoire Sud, France”), providing estimates of energy, carbohydrate, protein, lipids, fibres, sodium, zinc, calcium, magnesium, iron and phosphorus, among others (Table S3). PCA axes 1 and 2 are shown in the panel A and PCA axes 2 and 3 are shown in panel B.

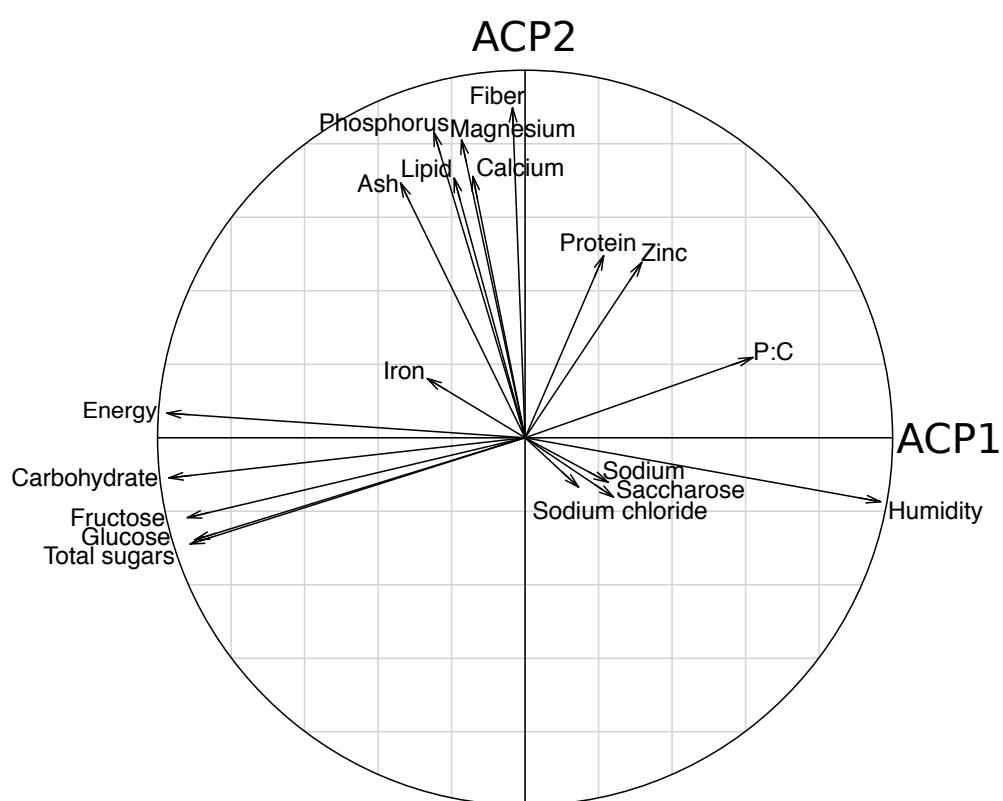


Figure S5 – Scatter diagram of a correlation circle of principal component analysis of the composition of the 12 purees of fruits. The first three principal component axes account for 74.52% of the variance in the original dataset.

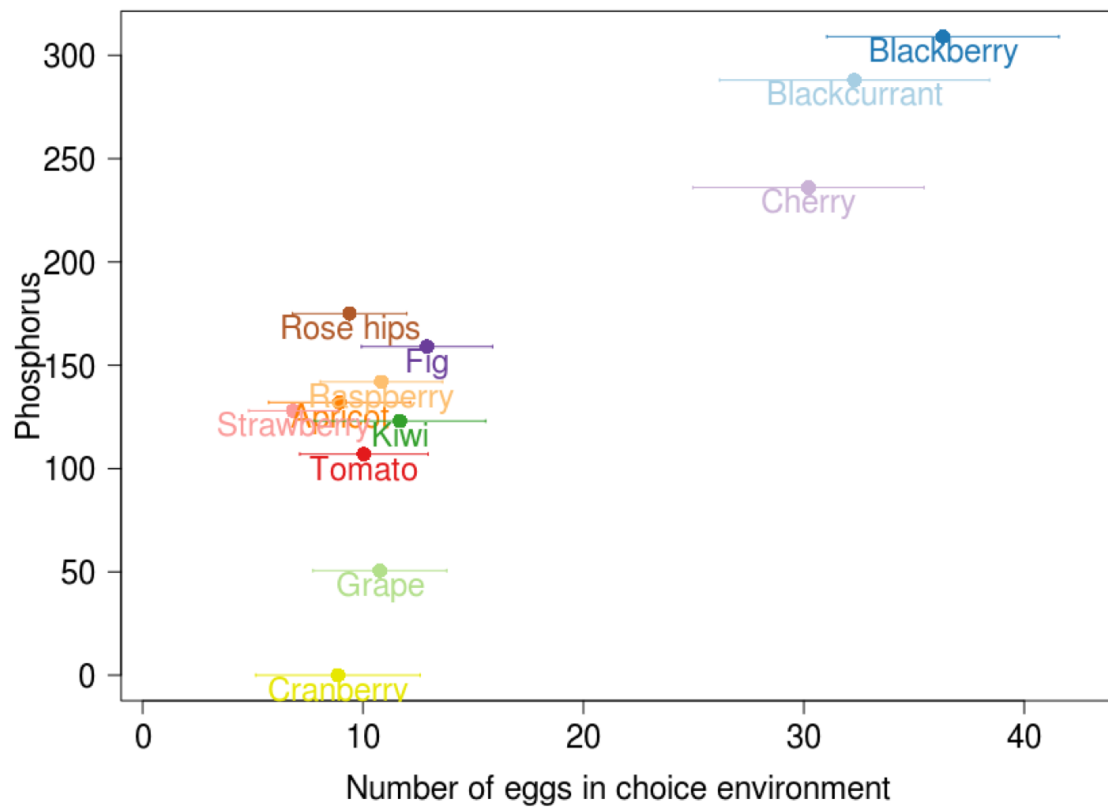


Figure S6 – Relationship between phosphorus (content in phosphorus in each fruit) and adult preference (number of eggs in choice environment). The point represents the joint mean with 95% CI error-bars for each fruit. There is a significant correlation between preference and content in phosphorus ($\rho = 0.69$, $S = 88$, $P = 0.016$).

Evolution of trade-offs across environments following experimental evolution of the generalist *Drosophila suzukii* to different fruit media

Laure Olazcuaga^{1,6}, Nicolas O. Rode¹, Julien Foucaud¹, Mathieu Gautier¹, Candice Deschamps¹, Anne Loiseau¹, Nicolas Leménager², Benoit Facon³, Virginie Ravigné³, Ruth A. Hufbauer⁵, and Arnaud Estoup¹

Authors affiliation:

¹ CBGP, INRA, CIRAD, IRD, Montpellier SupAgro, Univ Montpellier, Montpellier, France

² CBGP, CIRAD, Montpellier SupAgro, INRA, IRD, Univ Montpellier, Montpellier, France

³ INRA, UMR PVBMT, Saint Pierre, France

⁴ CIRAD, UMR PVBMT, Saint Pierre, France

⁵ Department of Bioagricultural Science and Pest Management and Graduate Degree Program in Ecology, Colorado State University, Fort Collins, CO 80523, USA

⁶ Corresponding author: Laure Olazcuaga, E-mail: olaz.laure@gmail.com

Submitted to *Evolution*

Preprint available in *BioRxiv*

<https://doi.org/10.1101/749945>

Abstract

Adaptation to divergent environments can result in ecological specialization. The detection of trade-offs across environments (*i.e.*, negative correlations in performance between different environments) is the hallmark of specialization. Although such trade-offs are predicted by theory, experimental evidence that trade-offs can readily evolve in the laboratory remains scarce. Here, we investigated the evolution of adaptation to distinct environments, including potential fitness trade-offs by maintaining populations of the generalist fruit pest, *Drosophila suzukii*, for 26 generations on media made with different fruits. We measured the performance and preference of each evolved population on the different fruits using reciprocal transplant experiments after five generations and at the end of our experiment. After five generations, experimental populations on most fruits had gone extinct, but they had adapted to three test fruit media, without exhibiting trade-offs. By generation 26 on these three fruits, specific adaptation to each fruit media had evolved, with trade-offs across media for some populations. The evolution of fruit-specific performance did not drive the evolution of corresponding preferences (*i.e.*, preferences for the evolution fruit). This study suggests that ecological specialization can evolve in generalist species, even if only transiently, when hosts or habitats are heterogeneous over time and space.

Key words: adaptation; experimental evolution; generalist/specialist; specialization; trade-offs

Manuscript C - Table of contents

1.	Introduction	130
2.	Methods	133
2.1	Field sampling and laboratory maintenance	133
2.2	Fruit Media	133
2.3	Experimental evolution	134
2.4	Phenotyping	135
2.5	Statistical analyses	136
3.	Results	139
3.1	Demographic dynamics of experimental populations	139
3.2	Adaptation during experimental evolution	139
3.3	Evolution of trade-offs across fruits and heterogeneity among populations	141
3.4	Influence of fruit composition on trade-offs	143
3.5	Oviposition stimulation and preference	143
4.	Discussion	143
4.1	Can populations develop on and adapt to contrasting fruits?	144
4.2	Gradual evolution of specialization	145
4.3	Heterogeneity of adaptation among populations and fruits	146
4.4	Does evolution of performance influence preference for differ- ent fruits?	146
4.5	Position of a species along a generalist-specialist gradient	147
4.6	Potential limits of our experimental setting	148
4.7	Implications for applied research	148
5.	Conclusions and perspectives	148
	Supplementary materials	151

1. Introduction

Ecological specialization is the process of adaptation to a restricted spectrum of environments originally used by a given species (reviewed in Bolnick and Svanba, 2003; Holt, 2009; Ravigné et al., 2009; Devictor et al., 2010; Poisot et al., 2011). This process is widely recognized as a major determinant of the emergence and maintenance of biodiversity (Futuyma and Moreno, 1988). It can be the first step in the evolution of host races and even speciation (*e.g.*, Filchak et al., 2000). The process of ecological specialization leads to a pattern of increased fitness in a local environment and decreased fitness in other environments (Futuyma and Moreno, 1988). When distinct trait values are optimal in different environments (for example, the ability of plants to tolerate salts or metals in the soil), fitness trade-offs across environments can emerge. Trade-offs can be measured phenotypically as a decrease in fitness in an environment associated with an increase in fitness in another environment (Angilletta et al., 2003). Genetically, adaptation to a subset of environments (*i.e.*, specialization) is due to an increase in the presence or frequency of alleles favorable in those environments. Phenotypic trade-offs appear when such alleles are either neutral or deleterious with respect to fitness in other environments (antagonistic pleiotropy; Fry, 1996). Phenotypic trade-offs also arise when alleles that are neutral in the focal environment (and thus not selected against and can accumulate over time) are deleterious in other environments (Kawecki et al., 1997).

Darwin's finches provide one of the most famous illustrations of trade-offs leading to ecological specialization (Grant and Grant, 1995). Species or populations with small beaks can open small seeds but not large seeds and reciprocally for species or populations with large beaks. Environmental changes in the size and toughness of the seeds available results in the evolution of both beak shape and beak size in these finches. While the inability of a bird to have two different beaks is self-evident, trade-offs are generally more challenging to detect in general (Fry, 1996). This challenge has been addressed by performing reciprocal transplant experiments of natural or experimentally evolved populations. In natural populations, reciprocal transplant experiments offer a direct way of revealing the presence of fitness trade-offs and patterns of local adaptation (Kawecki and Ebert, 2004; Bradshaw, 1984). In such experiments, the fitness of organisms is measured in their evolved environment (also called natal, local, sympatric, source or home environment) and in one or more alternative environments (also called novel, away or allopatric environments; Bradshaw, 1984). Reciprocal home site advantage indicates that adaptation to one environment involves performance trade-offs with other environments (Kawecki and Ebert, 2004), or that alleles favorable in one environment are simply neutral in other environments (Fry, 1996). An important question in evolutionary biology is to know whether trade-offs lead to specialization or whether the evolution of specialization leads to the evolution of trade-offs. The order of such processes is difficult if not impossible to discern through the direct study of natural populations (Magalhães and Matos, 2012; Kawecki et al., 2012). Experimental evolution aids in establishing the order and causality of evolutionary processes such as the evolution of organisms in response to selection pressures induced by an environment over time (Magalhães and Matos, 2012).

Although fitness trade-offs across environments are expected predicted by theory (Futuyma

and Moreno, 1988; though see Fry, 1996), experimental evidence for their evolution in experimental populations is mixed (Hereford, 2009). Experimental evolution of organisms ranging from bacteria, viruses, insects and plants in different abiotic and biotic environments have found trade-offs in some cases (Messina and Durham, 2015; Gompert and Messina, 2016; Bedhomme et al., 2012; Mackenzie, 1996; Fry, 1990), but not others (Messina and Durham, 2013; Laukkanen et al., 2012; Messina et al., 2009; Magalhães et al., 2009). The lack of trade-offs observed in many experimental evolution studies can have different causes (Fig. 1). Trade-offs are likely to evolve and be detected when populations adapt to environments with distinct phenotypic optima (Cooper and Lenski, 2000; Travisano and Lenski, 1996; Fig. 1A). Using this reasoning, trade-offs are unlikely to evolve when the environments are similar (Fig. 1B). For example, in the context of plant-insect interactions, the host plant determine the environment to which the herbivorous insects must adapt. If plant species share secondary (defensive) compounds, they may not represent substantially different selective environments (Fukano and Nakayama, 2018; Agrawal, 2000). Even when the environments to which populations are adapting differ, they might differ in similar ways from the ancestral environment, so that organisms adapting to one of the environments will also adapt to the other environment, increasing their fitness in both environments (Fig. 1C; Kassen and Bell, 1998; Reboud and Bell, 1997). For both these scenarios (Fig. 1B and Fig. 1C), trade-offs can ultimately evolve over multiple generations as mutations accumulate that are neutral in the home environment but deleterious elsewhere. Other more technical reasons may also explain the failure to detect trade-offs, including low statistical power and measurement of traits not involved in trade-offs (Phillips and Shine, 2007). Finally, the multidimensionality of trade-offs makes them inherently difficult to measure (Poisot et al., 2011).

Herbivorous arthropods represent one of the most diverse taxa on Earth and many are important pests (Messina, 1985). They are therefore often studied in the context of the evolution of specialization (Via, 1990). Theory predicts that polyphagy and hence generalism in herbivorous arthropods will be restricted by fitness trade-offs when attacking distinct host plants (Joshi and Thompson, 1995; Jaenike, 1990; Joshi and Thompson, 1995; Jaenike, 1990; Futuyma and Moreno, 1988) that differ in their physical or chemical defenses, nutrient profiles, phenologies and other traits (Simpson et al., 2015a; Behmer, 2009). However, even when host plants differ strongly, experimental evolution does not consistently find evidence of theoretically predicted trade-offs. For instance, Magalhães et al. (2009) did not find any trade-offs across host plants in spider mites that had evolved on distinct hosts for 25 generations.

Studying the evolution of specialization in herbivorous arthropods can strengthen our current understanding of when and why trade-offs evolve. In herbivorous insects, preference of adult females for different hosts and performance of juveniles on those hosts are two important fitness components. Theory shows that both preference (also called habitat choice) and performance are important drivers of the evolution of ecological specialization (Ravigné et al., 2009). Because the evolution of preference can reinforce specialization through habitat sorting, by decreasing migration between environments, preference and performance are expected to be positively correlated (Jaenike, 1990). Such a correlation means that females should choose to lay eggs onto

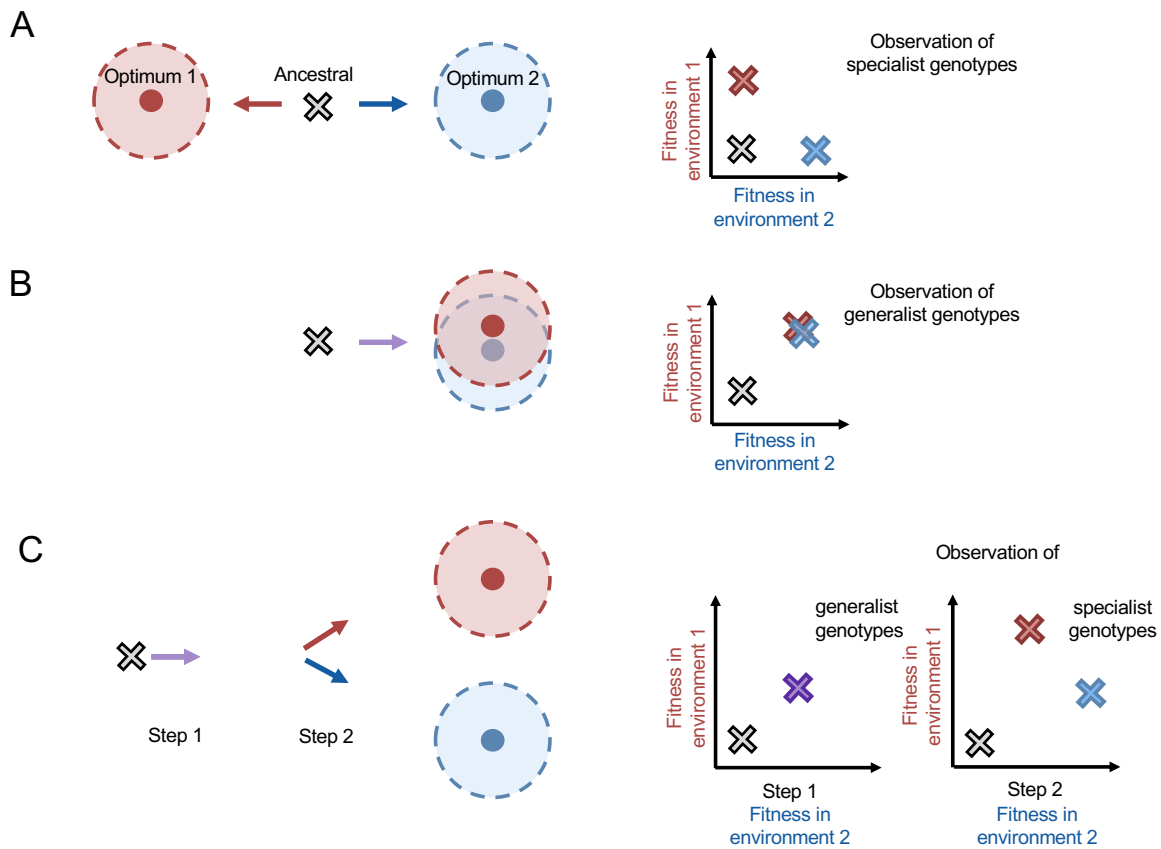


Figure 1 – Effect of the position of phenotypic optima relative to that of a starting population on the likelihood of evolving specialist genotypes. The relative positions of the phenotypic optima in the two dimensions of the fitness landscape determine whether generalist or specialist genotypes can evolve and whether trade-offs are detected. For each environment, the position of the phenotypic optima with maximum fitness are represented by red or blue dots respectively. The position of ancestral genotypes in the fitness landscape is represented by a grey cross. The adaptive response of the ancestral population to selection for two independent environments (red and blue) is given by the red and blue arrows, respectively, with purple corresponding to the overlap of blue and red arrows. The graphs in the right show the fitness estimates in both environment before and after selection. The crosses represent the fitness of different evolved genotypes assayed in environment 1 and environment 2. The red and blue crosses represent the genotypes evolved on the red and blue environment respectively, with purple corresponding to the overlap of blue and red crosses (see main text for details).

hosts that are suitable for their offspring, an idea called the “Mother knows best” hypothesis (Jaenike, 1990; Thompson, 1988). Several experimental studies have found support for this hypothesis in a variety of taxa (Gripenberg et al., 2010). During experimental evolution of performance, preference might hence co-evolve, for example towards higher preference for the fruit a population was reared on, especially when preference and performance are genetically linked (Via and Hawthorne, 2002).

Drosophila suzukii Matsumura (Diptera: Drosophilidae), the spotted wing drosophila, represents an excellent biological model to study the potential for specialization and the evolution of trade-offs in a generalist species. It is a generalist vinegar fly that has invaded several regions of

the world (Lee et al., 2011c). *Drosophila suzukii* uses more than 80 host plant species, including wild (e.g., rose hips and blackberries), ornamental (e.g., *Phytolacca americana*) and crop host plants (e.g., cherries and strawberries, Kenis et al., 2016). Moreover, spotted wing drosophila is a major pest of berries and stone fruits (Asplen et al., 2015). A better understanding the potential adaptations of this species to different hosts is hence of agronomic interest.

Here, we evaluated whether experimental evolution on different environments (*i.e.*, media based on different fruits) could lead to the evolution of trade-offs in a generalist species. We more specifically addressed the following four questions: 1) Does adaptation to contrasting fruits occur? ; 2) How does adaptation to one fruit influence performance across fruits? ; 3) If fitness trade-offs evolve, how are they influenced by the duration of the experiment or features of the fruit?; and 4) How does selection on performance on a given fruit influence preference for different fruits? We addressed these questions by experimentally evolving populations of *D. suzukii* from a wild population on media made with different fruits. We assessed the evolutionary response of populations from our experimental populations after 5 generations and after 26 generations by measuring their performance in the fruit they were maintained on (hereafter “sympatric fruit”) and alternative fruits (hereafter “allopatric fruits”), as well as their oviposition preference for those fruits.

2. Methods

2.1 Field sampling and laboratory maintenance

Drosophila suzukii were collected in the vicinity of Montpellier, France (six sampling sites within 10 km of Montpellier) in October 2016 using baited cup traps (Lee et al., 2013). About 1,000 flies were used to initiate a laboratory population. Prior to the start of the experiments, flies were maintained for nine generations on standard laboratory fly food (“German food” formulation consisting of sugar, dry yeast, minerals and antifungal solution; http://flystocks.bio.indiana.edu/Fly_Work/media-recipes/germanfood.html) at $21 \pm 2^\circ\text{C}$, 65% relative humidity, and 16:8 day/night light cycle in a controlled climate chamber. Experimental evolution and phenotyping were performed under the same temperature, humidity and light conditions. We initially used the neutral (German food) diet to avoid selecting for higher performance on or preference for any given fruit prior to the start of the experiment. The base population was maintained at a population size of approximately 2,000 individuals distributed in 100 tubes. Adult flies were allowed to oviposit for approximately 24 hours, and 15 days later, the emerging adults were randomly mixed to maintain a panmictic population. Those adults were allowed to mature for six days. To form the subsequent generation, approximately 2,000 mature individuals (approximately 20 per tube) were placed on fresh media. Generations were non-overlapping.

2.2 Fruit Media

During experimental evolution, flies were reared on artificial fruit media made using eight different fruit purees. We selected a range of fruits that included crops of agronomic interest that are all attacked to varying degrees (blackcurrant, cherry, cranberry, fig, grape, strawberry), crops

that are not currently attacked (tomato), and one non-crop species (rose hips). To choose the fruits, we considered their phylogenetic relationships and composition (Supp. Fig. S1). We also informed our choice with feedback from local pest management partners (FREDON Languedoc Roussillon, France and CTIFL, France) regarding the importance of *D. suzukii* as an agricultural pest. A preliminary experiment allowed the selection of fruits with similar distributions of fly development times (see Fig. 4 in Olazcuaga et al., 2019a). This was necessary because, during experimental evolution, the same generation time was used for all fruits (see below).

We used media made with fruit purees rather than whole fruit for two main reasons: purees allowed us to maintain consistent quality of fruits throughout the experiment and to compare fruits that ripen at different times of year directly. All purees were produced by private companies with agro-industrial techniques that preserve the properties of fresh fruits, without added sugar, coloring or preservatives. Purees were held frozen prior to use to maintain their original flavors and colors. Agar, inactive yeast and antifungal were added to produce each fruit medium. See Olazcuaga et al. (2019a) for details of the recipe composition and references for each product used to make the experimental fruit media.

2.3 Experimental evolution

Experimental populations of flies were established in March 2017 by placing adults from the 9th generation after collection from the field, on eight different fruit media (400 adults per fruit population; Fig. 2). No populations were maintained on the neutral media, and a fruit media control was not feasible, because the host plants used by the population sampled in the wild was unknown, as wild adult individuals were collected using traps late in the season when crops were no longer grown in the field. Five replicate populations were established per fruit (40 populations in total). Each population consisted of 20 tubes of 20 flies. For each tube, we put 20 flies that had emerged as adults six days earlier into a tube with a single fruit medium (approximately 10 ml) to mate and oviposit. At this stage of adult development, all adults would be ready to oviposit (Emiljanowicz et al., 2014). The sex ratio of the adults was neither controlled nor measured. After 18 hours, adults were removed. After 15 days, adults of the new generation were counted in every single tube. With this measure, we could keep track of the population size of each population, over the course of the experiment. 400 individuals per population were kept to produce the next generation, on a 21 day cycle. Each generation, adults were anesthetized using CO₂ and mixed to produce 20 tubes of 20 flies and were placed on fresh medium. If fewer than 400 individuals emerged, less than 20 tubes were made but always with 20 adults each. Populations were randomly distributed among eight racks (100 tubes per rack, composed of five populations of 20 tubes each) and randomly arranged spatially in a climate chamber. The 40 populations were reared in two temporal blocks separated by two days.

After five generations, individuals were phenotyped (see below). Only three fruits - cherry, cranberry, and strawberry - were further maintained, as populations from other fruits went extinct (see Results). The remaining populations on the three fruits were of relatively small size. Therefore, to reduce the potential for inbreeding depression, the separate lines for each of the three fruits were mixed and maintained as three populations of large size (not limited to 400 individuals) for

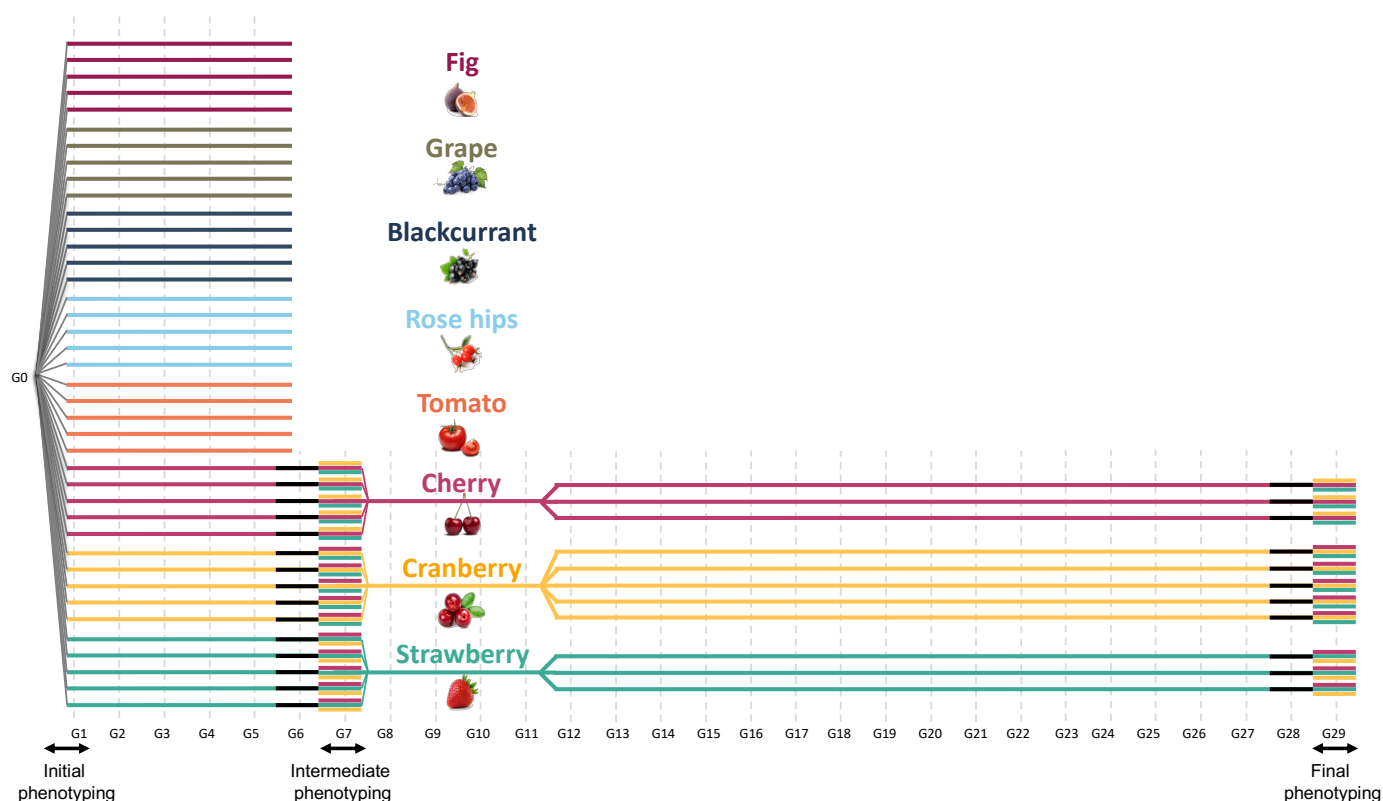


Figure 2 – Experimental evolution design depicting the different fruit media and the three phenotyping steps. Before each phenotyping, flies were raised in a common garden (neutral “German food”) for one generation, represented by a black line.

five generations, following the same experimental protocol. These three pooled populations (one for each fruit) were then divided again into separate replicates: three for cherry, five for cranberry and three for strawberry (Fig. 2). The number of replicate populations per fruit depended on the number of individuals available. During this third phase of experimental evolution, each population was maintained at a size of 500 individuals (25 tubes of 20 individuals) using the same protocol. Populations were randomly distributed among four racks (75 tubes per rack *i.e.*, three populations of 25 tubes) arranged randomly in the climate chamber. The 11 populations were reared in a single temporal block. Sixteen generations after mixing (thus 26 generations total on each fruit) populations were again phenotyped (see below).

2.4 Phenotyping

During our experiment, we phenotyped populations three times - in the 1st, 7th, and 29th generation (Fig. 2; G1, G7, and G29), by measuring the number of eggs laid and the number of adults that emerged in standardized conditions. G7 and G29 respectively experienced five generations and 26 generations on fruit media.

Prior to phenotyping, we reared all populations for one generation on neutral German food medium to standardize maternal environmental effects. After this step, we measured the performance and preference of each population on cherry, cranberry and strawberry media. Performance was measured in two ways: emergence rate (the proportion of eggs laid that emerged as adults) and the total number of adults (which integrates larval and adult survival and female fecundity). To do this, we put groups of 20 six-day old adults into tubes containing one of the three fruit media to mate and oviposit for 18 hours. For the initial and intermediate phenotyping steps, adults matured for 6 days on neutral medium and for the final phenotyping step adults matured on the test fruit medium. As during the experimental evolution, sex ratios of the groups of 20 adults were neither controlled nor measured. After adults were removed, all eggs were counted, and fifteen days later, the new adults that emerged were counted. During the initial phenotyping of the base population prior to experimental evolution, we replicated this measure with 100 tubes per treatment over two temporal blocks. During the intermediate phenotyping, we used an average of nine tubes per treatment and per population over six temporal blocks. For the final phenotyping, we used 30 tubes per treatment and per population over three temporal blocks.

To test for the possibility of that preference evolved in response to experimental evolution of performance, preference was measured during the initial, intermediate and final phenotyping steps in two ways: no-choice and choice conditions. Without a choice, the number of eggs represents how much a given media simulates oviposition. With a choice of different fruits to oviposit onto, the number of eggs on different fruits reflects oviposition preference. No-choice measurements of oviposition stimulation were done in single tubes, with 20 flies allowed to oviposit for 18 hours, and all eggs were then counted. To measure preference, we created rectangular experimental arenas containing 12 different fruit media (apricot, blackberry, blackcurrant, cherry, cranberry, fig, grape, kiwi, raspberry, rose hips, strawberry, and tomato) distributed randomly into 12 compartments. We allowed groups of 20 six-day-old flies (held six-days after emergence as adults on neutral medium) to oviposit for 18 hours in such arenas (Olazcuaga et al., 2019a). All eggs laid in each compartments were then counted. The sex ratio of the adults was neither controlled nor measured. The data from this initial phenotyping step, are published in Olazcuaga et al. (2019a) and not analyzed here. During the intermediate phenotyping step, we replicated this experiment with an average of 8 arenas per population over six temporal blocks. During the final phenotyping step, we replicated this experiment with an average of 15 arenas per population over three temporal blocks.

2.5 Statistical analyses

All analyses were performed using the R statistical software (R Core Team, 2014).

2.5.1 Adaptation during experimental evolution

To test how adaptation to different fruits evolved over time during experimental evolution, we performed two different analyses on the number of adults. Count (number of adults produced) data were analysed using generalized linear mixed models (GLMM) using the “lme4” package (Bates et al., 2015). The significance of each effect was tested using a model selection approach

based on likelihood ratio tests (LRT) with a 5% threshold.

First, we analyzed the performance of populations measured on their evolution fruit (the fruit they were maintained on). We did this for all generations (except when populations were pooled) to evaluate trends in performance over time. We analyzed the number of adults y_{ijk} produced, from populations evolved on fruit i ($i = 1, \dots, 3$) at generation j ($j = 1, \dots, 29$) in each tube k . y_{ijk} was assumed to follow a Poisson distribution with parameter λ_{ijk} which was modelled as follows:

$$\log(\lambda_{ijk}) = \text{evolution_fruit}_i + \text{generation}_j + \text{evolution_fruit}:\text{generation}_{ij} + \text{obs}_{ijk} \quad (1)$$

where fixed effects included the effect of the fruit on which the populations evolved (evolution_fruit_i), the effect of generation j (generation_j), and the interaction between these terms ($\text{evolution_fruit}:\text{generation}_{ij}$). To account for overdispersion, we added an observation-specific random effect obs_{ijk} , assumed to be normally distributed with mean zero and a variance σ_{obs}^2 .

Second, we compared the performance between the initial and the intermediate phenotyping steps and between the initial and the final phenotyping steps. For each pair of comparison, we analyzed the number of adults y_{ijkl} measured on the three test fruits i ($i = 1, \dots, 3$), for a population evolved on the fruit j ($j = 1, \dots, 3$) at generation k ($k = 1$ and 7 or 29 for the first and second comparison, respectively), and in each tube l . y_{ijkl} was assumed to follow a Poisson distribution with parameter λ_{ijkl} which was modelled as follows:

$$\begin{aligned} \log(\lambda_{ijkl}) = & \text{test_fruit}_i + \text{evolution_fruit}_j + \text{generation}_k + \\ & \text{test_fruit}:\text{evolution_fruit}_{ij} + \text{test_fruit}:\text{generation}_{ik} + \\ & \text{generation}:\text{evolution_fruit}_{jk} + \\ & \text{test_fruit}:\text{evolution_fruit}:\text{generation}_{ijk} + \text{obs}_{ijkl} \end{aligned} \quad (2)$$

where fixed effects included the effect of the test fruit (test_fruit_i) the fruit on which the populations evolved (evolution_fruit_j), the effect of generation (generation_k) and all the interactions between those terms. To account for overdispersion, we added an observation-specific random effect obs_{ijkl} , assumed to be normally distributed with mean zero and variance σ_{obs}^2 .

2.5.2 Detection of trade-offs across fruits

We tested for ‘sympatric–allopatric’ (SA) contrasts following Blanquart et al. (2013). Briefly, this method compares the performance of populations measured on their host of origin (their sympatric fruit) to that of populations measured on alternative hosts (all allopatric fruits) while controlling for variation in intrinsic quality among environments and for variation in genetic background among populations (e.g., due to differences in inbreeding depression). Detecting local adaptation with this method is equivalent to detecting trade-offs in performance across fruits.

For both the intermediate and final phenotyping steps, we analyzed performance y_{ijkl} (log-

transformed number of adults produced and emergence rate), measured on the test fruit i ($i = 1, \dots, 3$), for a population evolved on fruit j ($j = 1, \dots, 3$), in the replicate population k (with $k = 1, \dots, 14$ or $k = 1, \dots, 11$ for the intermediate and final phenotyping steps, respectively), and in each tube l . y_{ijkl} was fitted with a linear model as follows:

$$y_{ijkl} = \text{test_fruit}_i + \text{population}_k + \text{test_fruit:evolution_fruit}_{ij} + \text{SA}_{ij} + \epsilon_{ijkl} \quad (3)$$

where fixed effects included the effect of the test fruit (test_fruit_i), the effect of the population (population_k) and the fruit on which the populations evolved (evolution_fruit_j). SA_{ij} is the sympatric *vs.* allopatric effect that measures local adaptation. ϵ_{ijkl} is a random error term assumed to be normally distributed with a mean of zero and variance σ_{res}^2 . To test for local adaptation (and hence trade-offs), we used a two-way ANOVA to compute a F-test statistics (Eq. D1 in Blanquart et al., 2013). Statistical significance was assessed against the expected Fisher-Snedecor distribution with degrees of freedom df_1 and df_2 . The proportion of variance explained by each effect was calculated with the coefficient of determination (R^2) using the “rr2” package (Ives, 2019).

The previous test detects local adaptation providing that replicate populations adapt at similar rates. Since each population can follow a distinct evolutionary path, we also tested for local adaptation at the population level. We performed a similar statistical analysis considering the interaction between the replicate population k and the test fruit i (instead of the interaction between the fruit on which the population evolved j and the test fruit i as above) using the following model:

$$y_{ijkl} = \text{test_fruit}_i + \text{population}_k + \text{test_fruit:population}_{ij} + \text{SA}_{ij} + \epsilon_{ijkl} \quad (4)$$

Because the experimental performance data were discrete counts (number of adults emerged), we log-transformed them prior to analysis (Miller, 1997). We performed a set of computer simulations mimicking our experimental setup to evaluate the performance of the F-test when applied to log-transformed count data. Such simulations are detailed in the Supplementary Appendix S1. They confirm that, at least in our experimental setup (high replicate level and intermediate overdispersion of the count data), the F-test proposed by Blanquart et al. (2013) can be applied to log-transformed count data to detect local adaptation.

2.5.3 Heterogeneity of trade-offs among fruits and replicate populations

At the final phenotyping step, we compared mean performance of each population using a unilateral Student's t-test ($n=30$ tubes). Performance measured on the sympatric fruit was compared to that measured on each of the two allopatric fruits. We controlled for multiple comparisons following Benjamini and Hochberg (1995) adjusting the p-values accordingly. A corrected p-value $< 5\%$ indicates a significantly trade-off.

2.5.4 Influence of fruit composition on trade-offs

We used the method of Blanquart et al. (2013) to evaluate the effects of different compounds in the fruits on the evolution of trade-offs, using data on 18 factors (minerals, nutrient content and fiber) reported in Olazcuaga et al. (2019a); see Supp. Table S1). For each factor, we considered a model similar to that described in equation 3, with a term Δ_{ij} replacing SA_{ij} . Δ_{ij} was computed as the squared difference between the concentration of the factor in the test fruit j and the evolution fruit i . For each factor, a p-value for the Δ_{ij} effect was calculated, adjusting for multiple comparisons as above (Benjamini and Hochberg, 1995).

2.5.5 Evolution of oviposition stimulation and oviposition preference

For both the intermediate and the final phenotyping steps, we assessed whether oviposition (stimulation or preference) evolved in concert with the evolution of performance by evaluating whether the number of eggs laid in no-choice or in choice conditions was higher on the sympatric fruit than on the allopatric fruits. Because the experimental preference data were discrete counts (number of eggs laid in choice and no-choice environment), we log-transformed them prior to analysis (Miller, 1997). We used a F-test as described previously (with Eq. 3 for a fruit level investigation or Eq. 4 for a population level investigation). For the number of eggs laid in choice environment, we added a random effect of arena ($\mathcal{N}(0, \sigma_{arena}^2)$).

3. Results

3.1 Demographic dynamics of experimental populations

By the fifth generation of experimental evolution, populations on blackcurrant, fig, grape, rose hips or tomato were either extinct or close to extinction, with fewer than 30 individuals (4 to 28) present (Fig. 3). Hence, with our experimental setup, adaptation to these fruits was impossible.

Experimental populations persisted over the first five generations on cherry, cranberry and strawberry, but some had relatively small population sizes (Fig. 3; mean number of individuals $\pm$ sd for cherry, cranberry and strawberry respectively: 85.0 ± 62.0 , 89.6 ± 58.5 and 133.8 ± 134.8). Given these small populations sizes, the five replicate populations on each fruit were pooled after the intermediate phenotyping step to reduce the potential for inbreeding depression. Five generations later, these three pooled populations had grown enough (Supp. Fig. S2) to be divided into five, three and three replicate populations for cranberry, cherry and strawberry, respectively (with 500 individuals per replicate population; Fig. 2). We focused on these three remaining fruits in the following sections.

3.2 Adaptation during experimental evolution

Each generation, we monitored the number of adults that emerged in each tube (Supp. Fig. S3). These data revealed that, on the three focal fruits, population size tended to increase through time (significant interaction between the generation and the evolution fruit: LRT $\chi^2 = 64.41$, $df = 2$, $P < 0.001$) suggesting adaptation. Adaptation could be in response to a variety of factors including fruit medium as well as laboratory rearing environment.

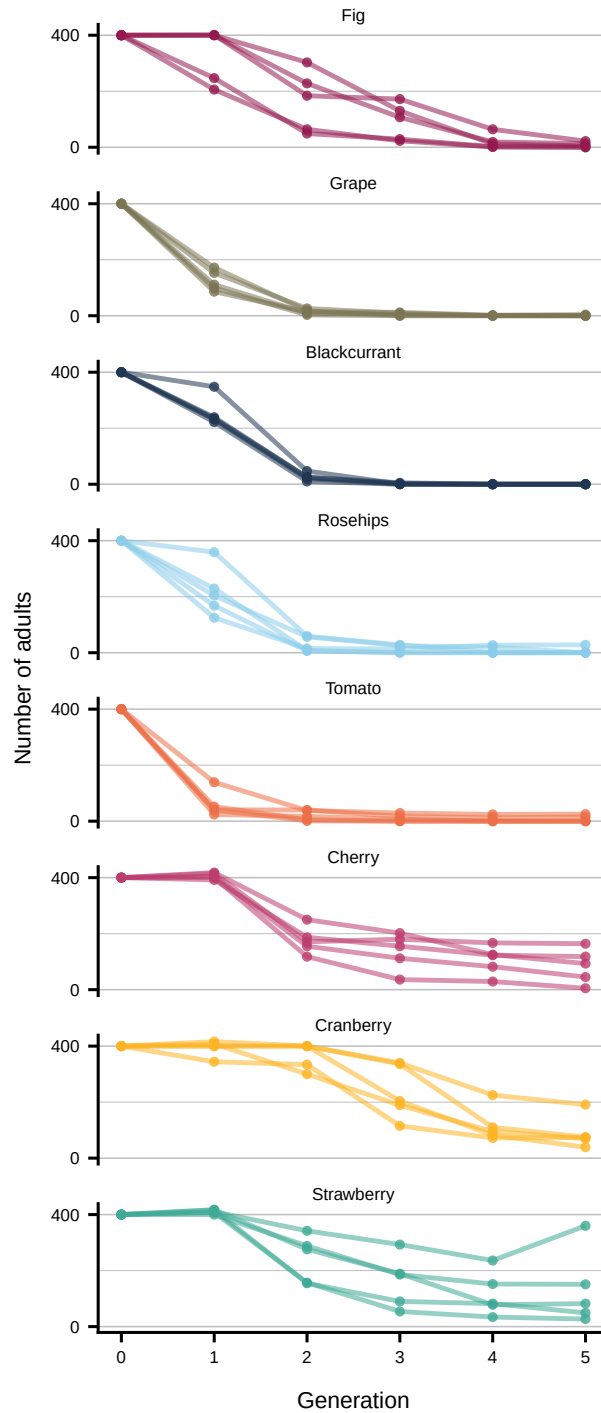


Figure 3 – Population size over the first five generations of experimental evolution of each replicate populations reared on different fruit media showing all five replicate populations per fruit.

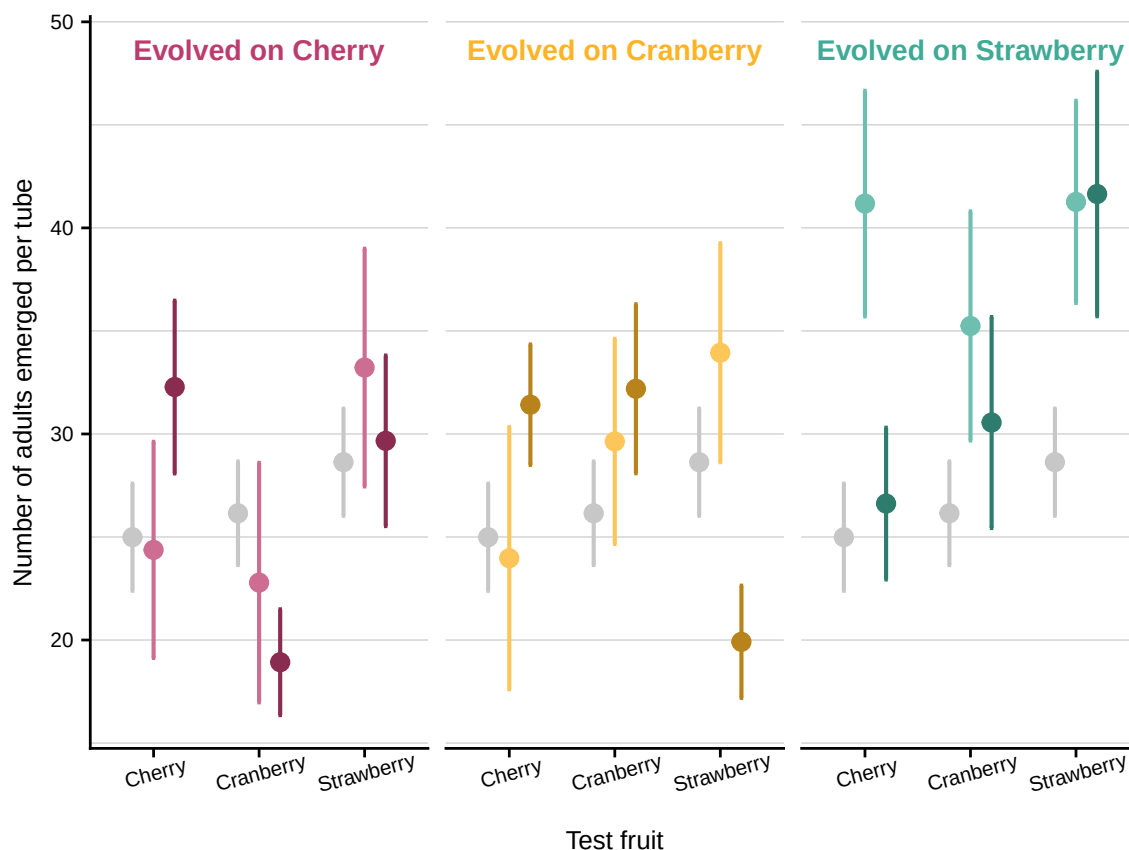


Figure 4 – Performance during the initial phenotyping step (grey fill), the intermediate phenotyping step (light colored fill) and the final phenotyping step (dark colored fill). The numbers of adults per tube emerged on cherry, cranberry and strawberry (x-axis) were measured for flies evolved on cherry (left), cranberry (middle) and strawberry (right).

During intermediate phenotyping step, performance was higher than during initial phenotyping, but the increase in performance depended on the evolution fruit (Fig. 4; significant interaction between generation and evolution fruit: $LRT \chi^2 = 13.34$, $df = 2$, $P = 0.001$). Only strawberry populations produced more adults on all three test fruits when compared to the initial phenotyping step ($z = 3.64$, $P < 0.001$, Fig. 4).

The final phenotyping revealed that the evolution of performance depended on which fruit the population had evolved on, with a significant three-way interaction between generation, evolution fruit and test fruit ($LRT \chi^2 = 16.92$, $df = 4$, $P = 0.002$, Fig. 4) that could illustrate local adaptation. For example, for populations evolved on strawberry, performance was higher on strawberry than on cherry (41.64 *vs.* 26.62 adults, respectively). Similarly, for populations evolved on cherry, performance was higher on cherry than on strawberry (32.28 *vs.* 29.67 adults, respectively).

3.3 Evolution of trade-offs across fruits and heterogeneity among populations

During the intermediate phenotyping step, no significant trade-offs between sympatric and allopatric fruits were detected in either the number of adults produced or emergence rate (Fig.

Table 1 – Tests for trade-offs in performance (number of adults and emergence rate), oviposition stimulation and oviposition preference. Intermediate phenotyping took place after five generations in each environment, final phenotyping took place after 26 generations. Sympatric fruit indicated the fruit that a population was maintained on. See main text for statistical details.

	Intermediate phenotyping		Final phenotyping	
	Evolution fruit	Population	Evolution fruit	Population
Performance: number of adults				
<i>P</i> -value	0.812	0.762	0.268	0.049
<i>F</i> -statistic	0.067	0.094	1.844	4.387
df1, df2	1, 3	1, 25	1, 3	1, 19
Performance: emergence rate				
<i>P</i> -value	0.952	0.943	0.087	0.010
<i>F</i> -statistic	0.004	0.005	6.328	8.075
df1, df2	1, 3	1, 25	1, 3	1, 19
Oviposition acceptance: number of eggs in no choice environment				
<i>P</i> -value	0.580	0.317	0.927	0.903
<i>F</i> -statistic	0.382	1.043	0.010	0.015
df1, df2	1, 3	1, 25	1, 3	1, 19
Oviposition preference: number of eggs in a choice environment				
<i>P</i> -value	0.048	0.074	0.109	0.075
<i>F</i> -statistic	4.391	3.250	2.800	3.242
df1, df2	1, 21	1, 131	1, 21	1, 109

4, Table 1). For both traits, the proportion of variance explained by the interaction between test fruit and sympatric fruits was consistently lower than the main population effect, indicating that differences in performance among populations were similar across test fruit (Supp. Fig. S4). During final phenotyping step, significant trade-offs were detected in performance when performing a statistical test at the population level ($P = 0.010$ and $P = 0.049$, for the emergence rate and number of adults respectively), but not at the evolution fruit level (Fig. 5, Table 1). Both the number of adults and emergence rates were higher in populations measured on the fruit on which they evolved than when measured on other fruits (Supp. Fig. S5). The discrepancy we found, at least for emergence rate, between the fruit level and population level statistical tests indicate that, although local adaptation could not be significantly detected on average over the three fruits, some populations of those fruits show clear hallmarks of trade-offs. Among the 11 populations, seven showed trade-offs in performance in a single allopatric fruit, while four populations showed trade-offs in both allopatric fruits (Fig. 6). Finally, the SA effect and the interaction between test fruit and evolution fruits explained more phenotypic variance during the final than during the intermediate phenotyping steps (Supp. Fig. S4).

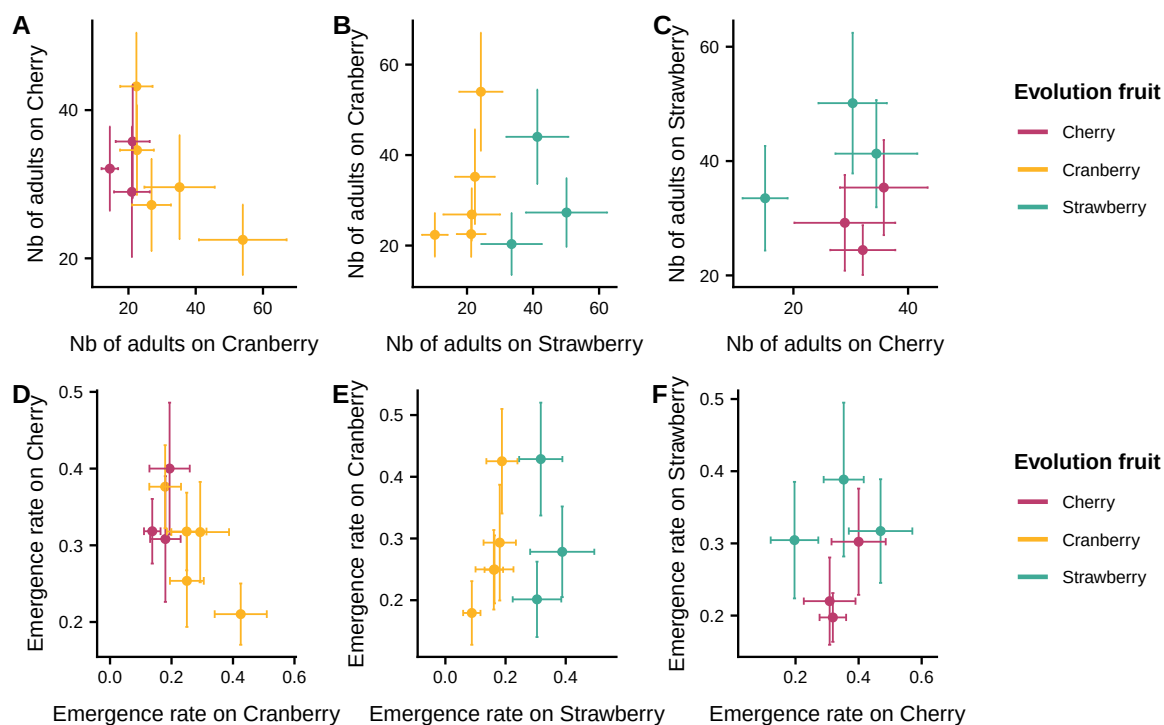


Figure 5 – Performance of populations during the final phenotyping step measured on one fruit and on another fruit (test fruit), for the populations evolved in one of the two fruits (evolution fruit). Performance is measured as the number of adults produced in a tube (A, B and C) and as the emergence rate (D, E and F). A and D: cherry *vs.* cranberry, B and E: cranberry *vs.* strawberry, C and F: strawberry *vs.* cherry. The dot represents the joint mean with 95% CI error-bars for each population.

3.4 Influence of fruit composition on trade-offs

The composition of the fruits did not explain differences in performance (Supp. Table S1). Fiber, zinc and iron had lower *p*-values than other factors ($P = 0.131$, 0.159 and 0.166 before correction for multiple comparisons, respectively) and thus are reasonable candidate factors for further exploration of the mechanisms driving trade-offs. In agreement with this, we found that, for these three factors, a bigger difference in concentration between sympatric and allopatric fruits was associated with a decrease in the number of adults (*e.g.*, Supp. Fig. S6).

3.5 Oviposition stimulation and preference

Neither oviposition stimulation nor preference for the evolution fruit evolved during the experiment (during the final phenotyping: $P > 0.075$; Table 1; Fig. 7). Overall the SA effect explained only a small fraction of phenotypic variation when compared with other effects (Supp. Fig. S4).

4. Discussion

The main goal of our study was to test whether experimental evolution of a generalist phytophagous species could lead to the evolution of trade-offs in performance across fruits. We found that, at least in a subset of populations, adaptation with trade-offs could evolve after multiple generations of experimental evolution. Trade-offs were not apparent early in the experiment

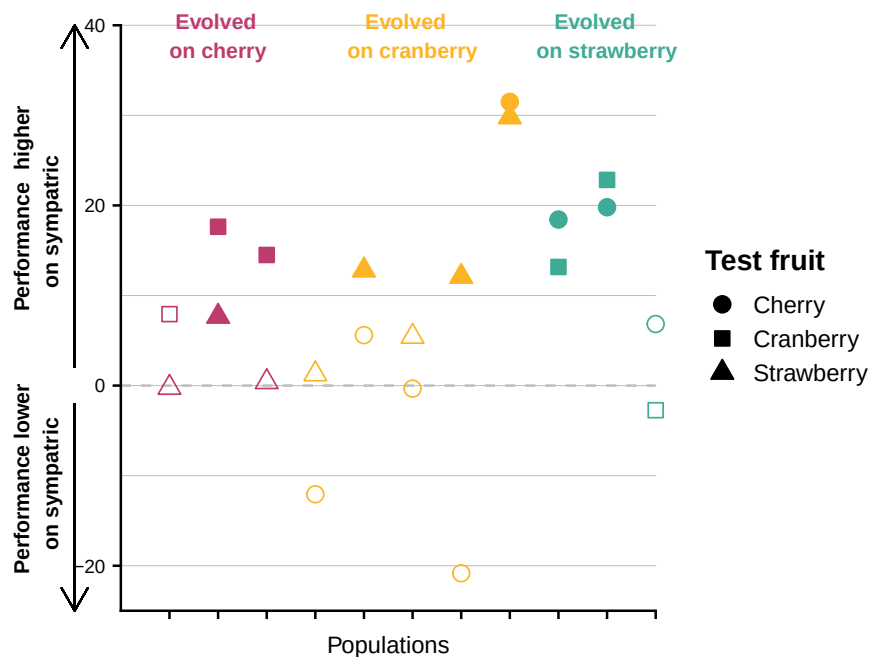


Figure 6 – Differences between performance on sympatric and allopatric fruits during the final phenotyping step for each population maintained on cherry (pink), cranberry (yellow) and strawberry (green). The shape of the symbol indicates the test fruit: cherry (circle), cranberry (triangle) and strawberry (square). For each of the 11 populations, the difference in performance between a given pair of sympatric and allopatric fruits was calculated as the performance on the sympatric fruit minus the performance on the allopatric fruit. Filled colored symbols indicate that the performance of the population is significantly higher on its sympatric fruit (after applying a multiple test correction) and hence that a trade-off occurs in this population.

(after the first five generations of evolution). In contrast to predictions regarding joint evolution of preference and performance, the evolution of performance did not drive the evolution of preference for the sympatric fruit.

4.1 Can populations develop on and adapt to contrasting fruits?

While multigenerational development was possible on a neutral medium before the experiment, experimental populations of *D. suzukii* on five of the eight fruits had gone extinct (or were likely to in the near future) after five generations on fruit media. This result emphasizes that, even though *D. suzukii* is a generalist, some fruits better support survival than others, at least in our experimental conditions. This contrasts with the widespread view that *D. suzukii* successfully exploits many fruit species. Our findings suggest that wild populations may experience source-sink dynamics (Kawecki, 1995) and that the use of at least some hosts in the wild may be transient. Some fruits (such as cherry, cranberry and strawberry) could represent source host plants to which population can adapt, while others fruits (such as blackcurrant, fig, grape, rose hips) could represent sink host plants, where multigenerational survival and adaptation are difficult. Although directly extrapolating our results and conclusions to the dynamics of wild populations remains speculative, our findings emphasize the importance of considering the dynamics of host use at a meta-population scale. Moreover, our results show that differences in both environment quality

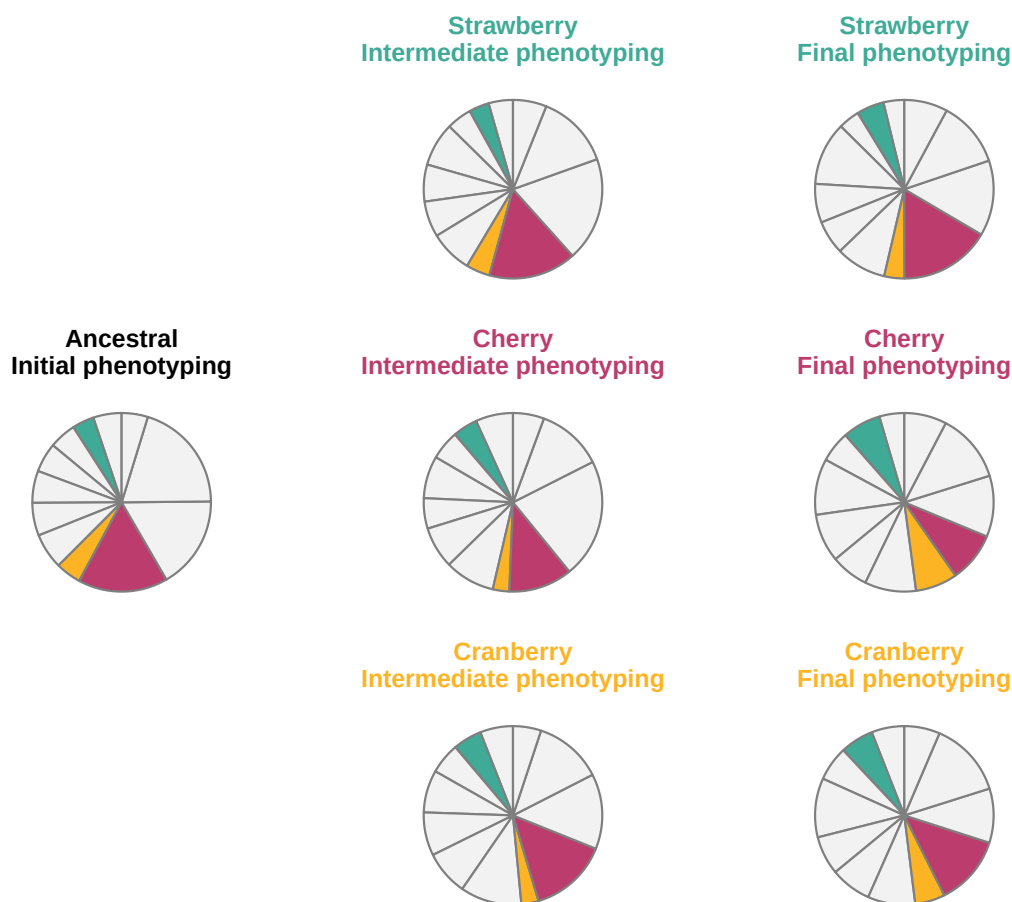


Figure 7 – Proportions of eggs laid on cherry (red), cranberry (yellow) and strawberry (green) in a choice environment experiment including 12 fruits for populations evolved on strawberry (top), cherry (middle), and cranberry (bottom). The proportions are given for the initial (left), intermediate (middle) and final (right) phenotyping steps. The ranking of fruit in the pie is always the same: apricot, blackberry, blackcurrant, cherry (pink), cranberry (yellow), fig, grape, kiwi, raspberry, rose hips, strawberry (green), tomato (alphabetical order). The oviposition preference of the ancestral population and measured during the initial phenotyping are from Olazcuaga et al. (2019a).

and genetic quality may explain a substantial portion of the variation in performance among environments (Supp. Fig. S4). It is thus important to test for local adaptation and trade-offs using a method that accounts for both habitat and population quality effects (Blanquart et al., 2013).

4.2 Gradual evolution of specialization

Specialization evolves through gradual steps in our experimental setup. The final phenotyping step, but not the intermediate one, showed that adaptation involves trade-offs among alternative environments, indicating that some populations had become specialized to their fruit medium. Also, the portion of variance in performance explained by the SA effect, was higher during the final phenotyping compared to during the intermediate phenotyping. Our results suggest that after an initial phase where performances increase were general (across all environments), later increases in performance on a given host entail a decrease in performance on alternative hosts. Populations first adapt to factors that are common to all three fruits (Griffin et al., 2017), and

then adapt to fruit-specific factors potentially through the mobilization of a set of metabolic functions and their specific associated genes or alleles. The mutational effects associated with this second evolutionary phase can be negatively correlated between environments (*i.e.*, antagonistic pleiotropy), explaining the trade-offs that we observed. These trade-offs could also reflect the accumulation of mutations, which can be neutral in the home environment but deleterious when the gene is expressed in other environments (Kawecki, 1994). Our experimental design does not allow us to discriminate between these different root causes or to disentangle the contribution of each of their effects. Addressing this question would require a comparison of the fitness of individuals from crosses between different populations to discriminate the respective role of drift and selection in shaping these trade-offs.

4.3 Heterogeneity of adaptation among populations and fruits

Interestingly, we found that populations adapt to the same fruit along different evolutionary trajectories. Specifically, performance trade-offs are only evident at the population level, not the environment level. We expect such a heterogeneity in adaptation patterns among populations based on theory (Garland and Rose, 2009). Similar patterns have been observed in experimental evolution studies using *D. melanogaster* (*e.g.*, Rand et al., 2010; Clark and Fucito, 1998). Although the populations showed similar increase in fitness, they may have taken different adaptive paths, or they may have diverged through genetic drift in other aspects (Heffernan and Wahl, 2002; Wichman et al., 1999). Although our test based on sympatric-allopatric contrasts considers allopatric environments as equivalent, different allopatric environments (different fruits) differ in their chemical composition. We suggest that fiber, zinc and iron be explored as potential candidate factors that might influence the evolution of trade-offs among environments. Subtle variation in host-plant chemistry has been shown to affect herbivores adapted to particular host-plant families (*e.g.*, Huang and Renwick, 1993) and host-specific chemical compounds are often involved in the specialization process (Linz et al., 2013; McBride, 2007; Dicke, 2000). For *Drosophila* species, several studies have already shown adaptation to macronutrients during experimental evolution (*e.g.*, Kristensen et al., 2011). Our results on *D. suzukii* remain focus on only three fruits, which covers a relatively narrow range of variation in composition, and thus composition may play a larger role in nature than we observe here. We develop a new approach to unravel the role of nutrients potentially responsible for host-plant specialization. This method represents a promising step to link studies focusing on the specialization to whole host plants in natural habitats with those focusing on the experimental evolution of specialization to particular nutrients in the laboratory.

4.4 Does evolution of performance influence preference for different fruits?

Evolution of performance to a given host can potentially drive the evolution of preference for the sympatric host (*e.g.*, Agrawal, 2000). Theory predicts that females may evolve a preference for laying eggs in the host that maximizes their offspring fitness, an evolutionary feature also known as the “Mother knows best” principle (Jaenike, 1990; Thompson, 1988). Genetic correlations between

adult preference and larval performance might be low in our experiment. This is because selection may take many generations either to increase the preference of females to oviposit on a novel host or to increase the fitness of larvae on this novel host (Thompson, 1988; Legg et al., 1986; Chew, 1977; Wiklund, 1975), specifically in generalist species (Charlery de la Masselière et al., 2017; Roslin and Salminen, 2008). Accordingly, experimental evidence for the “Mother knows best” principle has been mixed (Gripenberg et al., 2010; Poore and Steinberg, 1999; Futuyma and Moreno, 1988). Importantly, selection pressure was on performance only and never involved preference (or any kind of choice) in our experimental setup. The absence of evolution of oviposition preference at the end of our experiment hence suggests that preference and performance are not genetically linked in *D. suzukii*. Moreover, while performance and host choice are expected to feedback positively into each other (Via and Hawthorne, 2002; Berlocher and Feder, 2002; Whitlock, 1996), it is often argued that phenotypic plasticity in preference is a stronger driver of specialization than the reverse (Snell-Rood, 2013; Pfennig et al., 2010). Dedicated experimental evolution focused on preference could foster our understanding of the relationship between host choice and performance in our biological system and beyond.

4.5 Position of a species along a generalist-specialist gradient

The position of a species along the gradient from generalist to specialist depends on several factors: the strength of trade-offs across environments, evolutionary factors such as gene flow across environments and factors such as the frequency and quality of environments (Ravigné et al., 2009; Jasmin and Kassen, 2007; Woolhouse et al., 2001). Theory predicts that generalism in herbivorous arthropods could be restricted by trade-offs in fitness among different host plants (Jaenike, 1990; Joshi and Thompson, 1995; Futuyma and Moreno, 1988). Our results show that *D. suzukii* has the genetic diversity to adapt locally and restrict its host range and hence specialize with respect to performance. Our study highlights the importance of carefully employing terms such as generalist. In practice, some species are considered generalists because they emerge from a large range of hosts, or because they are able to use a host for a single generation. However, differences among host plants can result from differences in preference or performance, but also from differences in host plant availability, limited dispersal among host plants, or differences in enemies presence among host plants for instance. Here, we illustrate the importance of multi-generational experiments to evaluate the sustainability of host use. For *D. suzukii*, maintaining populations for multiple generations drastically reduces the range of sustainable hosts. It would be of particular interest to investigate host specialization in wild populations of *D. suzukii* and compare with our results (as done in Fellous et al., 2014 with *Tetranychus urticae*). It is possible that *D. suzukii* might temporarily adapt to host plants, that are available for several generations at a time in the field. This could be tested by evaluating performance on the different hosts available throughout the year. In that respect, four *Drosophila* species have already been followed by ‘capture-mark-recapture’ method to test the effect of resource availability, quantitatively assessed thoroughly in either spatial or temporal terms, on their population biology (Breitmeyer and Markow, 1998, see also Tait et al., 2018 for an example of population dynamic study using *D. suzukii*).

4.6 Potential limits of our experimental setting

For three fruits, we temporary pooled populations evolving on the same fruit to alleviate potential effects of inbreeding depression. The demographic trajectories we observed thereafter suggest evolutionary or genetic rescue (Hedrick and Garcia-Dorado, 2016; Whiteley et al., 2015; Gomulkiewicz and Holt, 1995). Although the data do fit that interpretation well, our experiment was not set up explicitly to study this phenomenon, and we lack the appropriate experimental controls to confirm or infirm this interpretation. While this pooling step most likely allowed adaptation by reducing inbreeding depression, it also limited our power to study the adaptive process. The observed trade-offs during the final phenotyping step might have evolved in a single replicate population during the five generations before the pooling step or during the five generations of pooling, instead of several times independently in each replicate populations during the 16 later generations. However, the effect of pooling on reducing inbreeding depression is probably stronger than its effect on increasing the frequency of adaptive mutations. Indeed, the five generations of pooling are rather expected to alleviate the fixation of the numerous deleterious alleles located all over the genome than to favor the spread of beneficial alleles more locally confined in the genome. Finally, we observed substantial phenotypic variance across the different replicate populations at the end of our experiment, which supports the view that most of the adaptive processes occurred during the 16 generations of experimental evolution following the pooling step.

4.7 Implications for applied research

The evidence of specialization that we found has important implications for research on wild *D. suzukii* pest populations, which damage cultivated fruits (Walsh et al., 2011). Our results indicate that *D. suzukii* can increase its performance when cycling for several generations on the same host. Damage due to this species may therefore increase if the same fruit is cultivated continuously or at least for long periods of time during the year. This might pose serious threats where fruits are cultivated throughout the year (*e.g.*, strawberry in California, USA). Our results further suggest that monocultural practices might foster the development of better adapted (*i.e.*, more damaging) populations than practices favoring spatial and temporal diversity of cultivated hosts. However, adaptation in the wild might also depend on additional ecological factors (*e.g.*, presence of natural enemies) and intricate evolutionary forces (*e.g.*, migration and selection in a heterogeneous environment) than those studied in the laboratory here. It remains crucial to compare host performance and preference patterns across populations sampled in spatially and temporally diverse agricultural landscapes to ascertain this last point.

5. Conclusions and perspectives

We found that trade-offs across artificial fruit environments can evolve in the generalist herbivorous species, *D. suzukii*, when it develops on the same fruit over several generations without migration. We show that, at least in some fruits, specialization can evolve. Our study highlights that some species considered to be generalists because they attack a wide range of hosts can

quickly specialize. These results call for great care and justification when calling a species a generalist. Our study shows that several cycles in a single environment can reduce performance in other environments (under restricted migration). It would be of particular interest to assess whether signatures of host specialization are also found in wild populations of *D. suzukii* and whether the level of generalism is modulated by the spatial and temporal distribution of host plants in its natural environment. Another stimulating perspective of the present work lies in the deciphering of the genetic basis and physiological pathways involved in the observed specialization pattern. A genomic comparison of the ancestral and our evolved populations should provide insights into the genetic basis of performance trade-offs and more generally of the rapid adaptation from standing genetic variation and of its dynamics in small populations.

Data accessibility

Our data will be archived on dryad upon acceptance.

Author's contributions

Conceptualization, L.O., N.O.R., J.F., M.G., B.F., V.R., R.A.H. and A.E.; Experimental design, L.O., N.R. and J.F.; Experiment realization and data acquisition, L.O., C.D., A.L. and N.L.; Statistical analysis, L.O. and N.O.R.; Writing – Original Draft, L.O.; Writing – Review & Editing, L.O., N.O.R., J.F., M.G., B.F., V.R., R.A.H. and A.E.; Funding Acquisition, M.G. and A.E.

Acknowledgments

We are grateful to P. Audiot, A. Savage, A. Gagu, L. Benoit, J.L. Imbert and R. Vedovato for technical assistance and to the Sicol cooperative for providing us with some fruit purees. L.O., M.G., J.F. and A.E. were supported by the Languedoc-Roussillon region (France) through the European Union program FEDER FSE IEJ 2014-2020 (project CPADROL) and the INRA scientific department SPE (AAP-SPE 2016). R.A.H. acknowledges support from the National Science Foundation (DEB-0949619), USDA Agriculture and Food Research Initiative award (2014-67013-21594), Hatch project 1012868, the French Agropolis Fondation (LabEx Agro-Montpellier) through the AAP "International Mobility" (CfP 2015-02), the French programme investissement d'avenir, and the LabEx CEMEB through the AAP "invited scientist 2016". N.O.R. acknowledges support from the CeMEB LabEx/University of Montpellier (ANR-10-LABX-04-01). V.R. received support from the European Regional Development Fund (ERDF) and the Conseil Régional de la Réunion.

Supplementary materials

Appendix 1: Performance of the F-test for local adaptation (Blanquart et al., 2013) when applied to non-normally distributed traits

1. Motivation

The F-test proposed by Blanquart et al. (2013) to test for local adaptation assumes that the fitness related trait under study is normally and independently distributed with equal variances. We here evaluated the power and robustness of the test when applied to log-transformed non-normally distributed count data simulated under a scenario mimicking our experimental setup (*i.e.*, similar number of populations, habitats and individuals) and with different levels of local adaptation.

2. Methods

The count data Y_{ijk} for the trait (*i.e.*, the number of eggs laid or number of emerged adults that emerged) observed in population i on the host plant j for individual k was simulated as follows:

$$Y_{ijk} = \text{Poisson}(\lambda_{ijk}) \quad (1)$$

where $\lambda_{ijk} = \exp(\mu + s * I_{ij} + a_i + b_j + c_{ij} + \epsilon_{ijk})$.

μ is a constant term corresponding to the overall mean counts measured in a log scale, $a_i \sim \mathcal{N}(0, \sigma_a^2)$ is the population i effect, $b_j \sim \mathcal{N}(0, \sigma_b^2)$ is the habitat j effect, $c_{ij} \sim \mathcal{N}(0, \sigma_c^2)$ is the population by habitat interaction effect, and $\epsilon_{ijk} \sim \mathcal{N}(0, \sigma_\epsilon^2)$ is an error term that introduces overdispersion among individuals sampled from population i sampled in habitat j . The binary auxiliary variable I_{ij} indicates whether the population/habitat combination is allopatric ($I_{ij} = 0$ when $i \neq j$) or sympatric ($I_{ij} = 1$ when $i = j$). s is the magnitude of the fitness advantage of being in sympatry (relative to allopatry).

To mimic our experimental design, we simulated $I = 11$ populations and $J = 3$ habitats and the per population/habitat combination sample size was set by default to $n=30$. Similarly, in our experiment, we estimated $\mu = 3.053$, $\sigma_a = 0.165$, $\sigma_b = 0.0636$; $\sigma_c = 0.345$; $\sigma_{\epsilon} = 0.868$ and $s = 0.295$ for the number of adults emerged during the final phenotyping. We thus considered these estimations, as default values, for the corresponding simulation parameter values. We also simulated a range of values for four parameters that were each modified one at a time (*i.e.*, other simulation parameter being set to their default values): (i) $s = 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4$ or 0.5 to evaluate the power of the method as a function of the magnitude of local adaptation with; (ii) $\sigma_{\epsilon} = 0, 1, 2$ or 3 to evaluate the impact of overdispersion (from absent to three times as high as the one we observed); (iii) $\mu = 0, 1, 2, 3, 4$ or 5 to evaluate the effect of the overall mean count (from $n = 1$ to ca. 150 on a natural scale); and (iv) the sample size per population/habitat combination was set to 2, 10, 20 or 30 to evaluate the effect of the number of replicates per combination.

For each simulation scenario, 5,000 data sets were generated and analyzed as described in

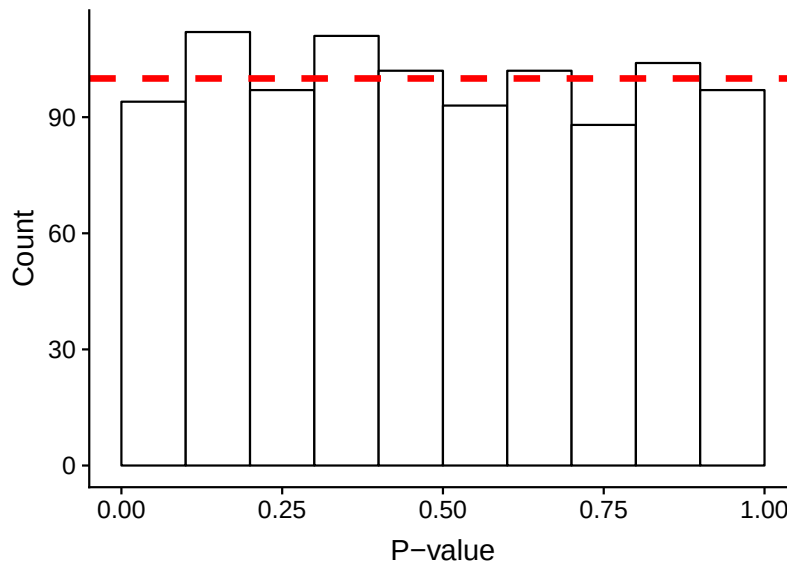


Figure A1 – Distribution of p -values calculated using Blanquart et al. (2013)’s F-test processed after a log transformation of data simulated following our experimental setup conditions and with a local adaptation s value equals to 0.

the main text. To compare the performance of the model for different parameter values, we used the R package PRROC (Grau et al., 2015) to compute for various p -value thresholds the (i) true positive rates (TPR) or power which corresponds to the proportion of data sets with $s > 0$ among the ones declared significant for local adaptation); and (ii) false positive rates (FPR) which corresponds to the proportion of data sets with $s = 0$ among the ones declared non-significant for local adaptation. From these estimates, standard receiver operating curves (ROC) plotting TPR against FPR could then be drawn and the area under the ROC curve (AUC) computed. Note that $AUC = 1$ corresponds to an optimal classifier.

3. Results

Figure A1 shows that the distribution of p -values obtained after analyzing data sets simulated with $s = 0$ (no local adaptation) is uniform. The Blanquart F test applied to log-transformed count data is thus well calibrated under the null hypothesis of no local adaptation, at least under the conditions of our experimental set-up.

The ROC curves obtained from the analysis of data sets simulated with varying magnitude of local adaptation (from $s = 0.1$ to $s = 0.5$) are plotted on Figure A2. As expected, the performance of the model improved with s , the ROC-AUC being above > 0.99 for $s \geq 0.3$, the latter value being similar to the one we estimated on real data in our experiment.

Figure A3 gives the ROC curves obtained from the analyses of simulated data sets when varying i) the population by habitat sample size ($n = 2$ to $n = 30$); ii) overall mean count (from $\mu = 0$ to $\mu = 5$ in log-scale); and iii) overdispersion (from $\sigma_e = 0$ to $\sigma_e = 3$). The approach was mainly found sensitive to a smaller number of individuals ($n < 20$) and to higher overdispersion ($\sigma_e > 2$) than the ones corresponding to our experiment. Interestingly, the overall average mean count had only minor effect on the performance of the method.

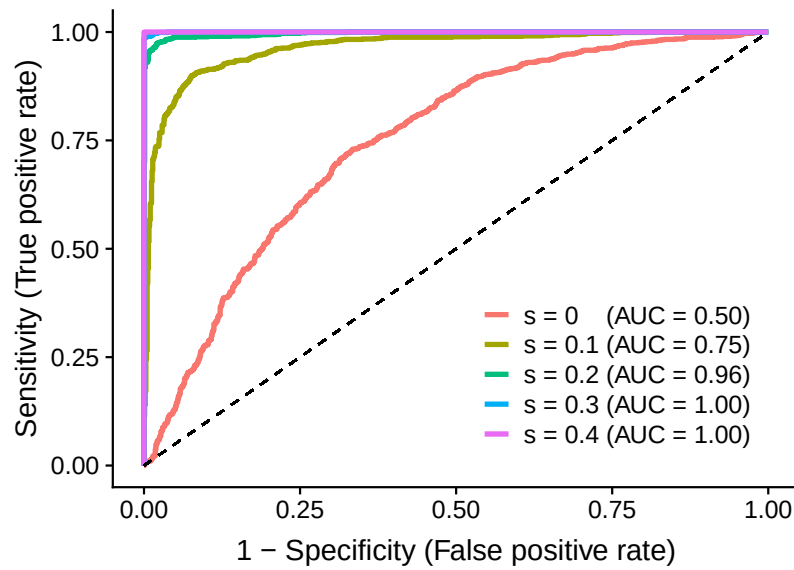


Figure A2 – Evaluation of the performance of the method for varying magnitude of local adaptation (measured by s). Count data sets were simulated with five different values of s ranging from $s = 0.1$ to 0.5 (other simulation parameters being set to their default value). In each case, 5,000 data sets were then analyzed with the F-test by Blanquart et al. (2013) after log-transformation to estimate TPR and FPR (averaged over all the data sets). The corresponding ROC curves are plotted and ROC-AUC are given in parentheses in the figure legend.

4. General conclusion

From the power analysis results given above, we conclude that the F-test proposed by Blanquart et al. (2013) to detect local adaptation can be applied to log-transformed count data provided that the population by habitat sample size is high enough (> 20) and overdispersion of the data remained limited, as previously discussed in O'Hara and Kotze (2010).

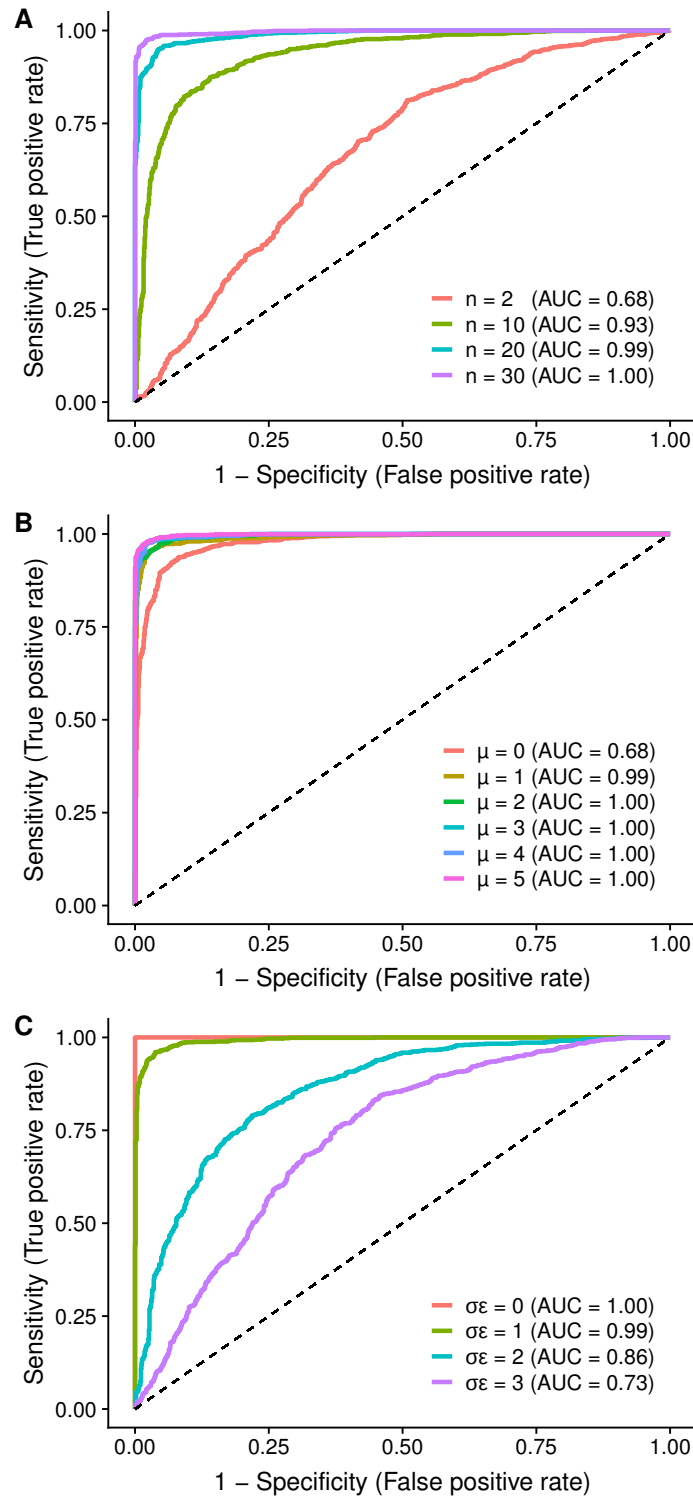


Figure A3 – Evaluation of the performance of the method when varying (A) the population by habitat sample size (measured by n), (B) the overall mean count (measured by μ) and (C) the overdispersion of data (measured by σ_{ϵ}). Count data sets were simulated with four different values of n ranging from $n = 2$ to 30 (other simulation parameters being set to their default value), six different values of μ ranging from $n = 0$ to 5 (other simulation parameters being set to their default value), and four different values of σ_{ϵ} ranging from $n = 0$ to 3 (other simulation parameters being set to their default value). In each case, 5,000 data sets were then analyzed with the F-test by Blanquart et al. (2013) after log-transformation to estimate TPR and FPR (averaged over all the data sets). The corresponding ROC curves are plotted and ROC-AUC are given in parentheses in the figure legend.

Supplementary tables

Table S1 – Composition for 18 factors of the three fruit media (cherry, cranberry and strawberry) used in the experimental evolution (data from Olazcuaga et al., 2019a). The ash is the measure of residues obtained after heating so that water and organic materials such as fat and protein are removed. The measure of total sugars is the sum of the measures of fructose, glucose, saccharose, maltose and lactose. The measure of carbohydrates is the sum of measures of these sugars (total sugar) and all the other carbohydrates (*e.g.*, amidon or polyols). Statistical analyses are based on the F-test proposed by Blanquart et al. (2013) using Eq. 3.

Variables	Cherry	Cranberry	Strawberry	<i>P</i> -values	Corrected <i>P</i> -values	Units
Moisture content	78.3	92.9	91.5	0.918	0.918	g/100g
Ash	0.6	0.1	0.32	0.771	0.918	g/100g
Protein	0.7	0	0.5	0.536	0.918	g/100g
Lipid	0	0	0	NA	NA	g/100g
Fiber	1.1	1.5	0.8	0.132	0.598	g/100g
Carbohydrate	19.3	5.5	6.9	0.917	0.918	g/100g
Energy	349	106	132	0.916	0.918	kJ/100g
Fructose	4.8	2.2	2.7	0.900	0.918	g/100g
Glucose	4.6	1.6	1.9	0.917	0.918	g/100g
Saccharose	0	0	0	NA	NA	g/100g
Total sugars	9.4	3.8	4.6	0.911	0.918	g/100g
Sodium: Na	11.8	3.7	10.5	0.433	0.918	mg/100g
Sodium chloride: NaCl	0.03	0	0.03	0.326	0.918	g/100g
Zinc: Zn	0.69	0.59	1.3	0.159	0.598	mg/100g
Calcium: Ca	230	57.4	90	0.901	0.918	mg/100g
Magnesium: Mg	139	24.9	91.9	0.648	0.918	mg/100g
Iron: Fe	3.6	3.1	7.3	0.166	0.598	mg/100g
Phosphore: P	236	0	128	0.688	0.918	mg/100g

Supplementary figures

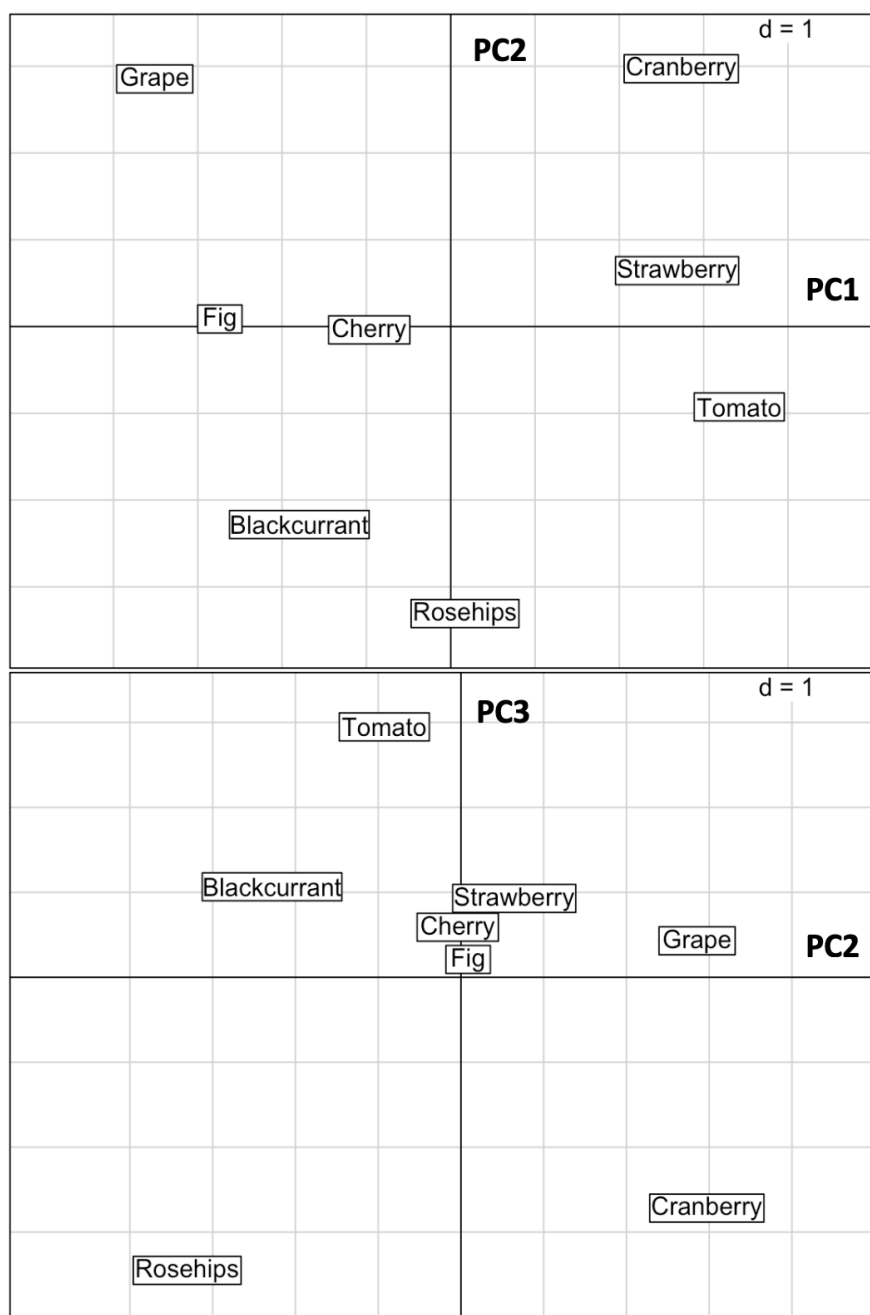


Figure S1 – Principal component analysis of the chemical composition of the eight fruit purees. A principal component analysis (PCA) of fruit composition facilitated the selection of fruits that differed in carbohydrate, lipid, protein and mineral composition. The nutritional composition of the 12 purees of fruits was determined by a private company (Cereco Laboratoire Sud, France), providing estimates of energy, carbohydrate, protein, lipids, fibers, sodium, zinc, calcium, magnesium, iron and phosphorus, among others (see also Table S1). PCA axes 1 and 3 are shown in the panel A and PCA axes 2 and 3 are shown in panel B.

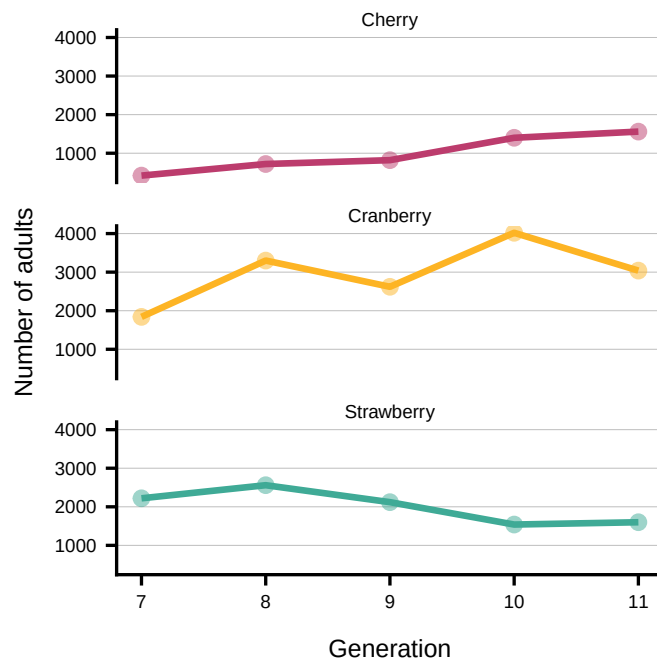


Figure S2 – Sizes of the three pooled populations in cherry, cranberry and strawberry media for generations 7 to 11.

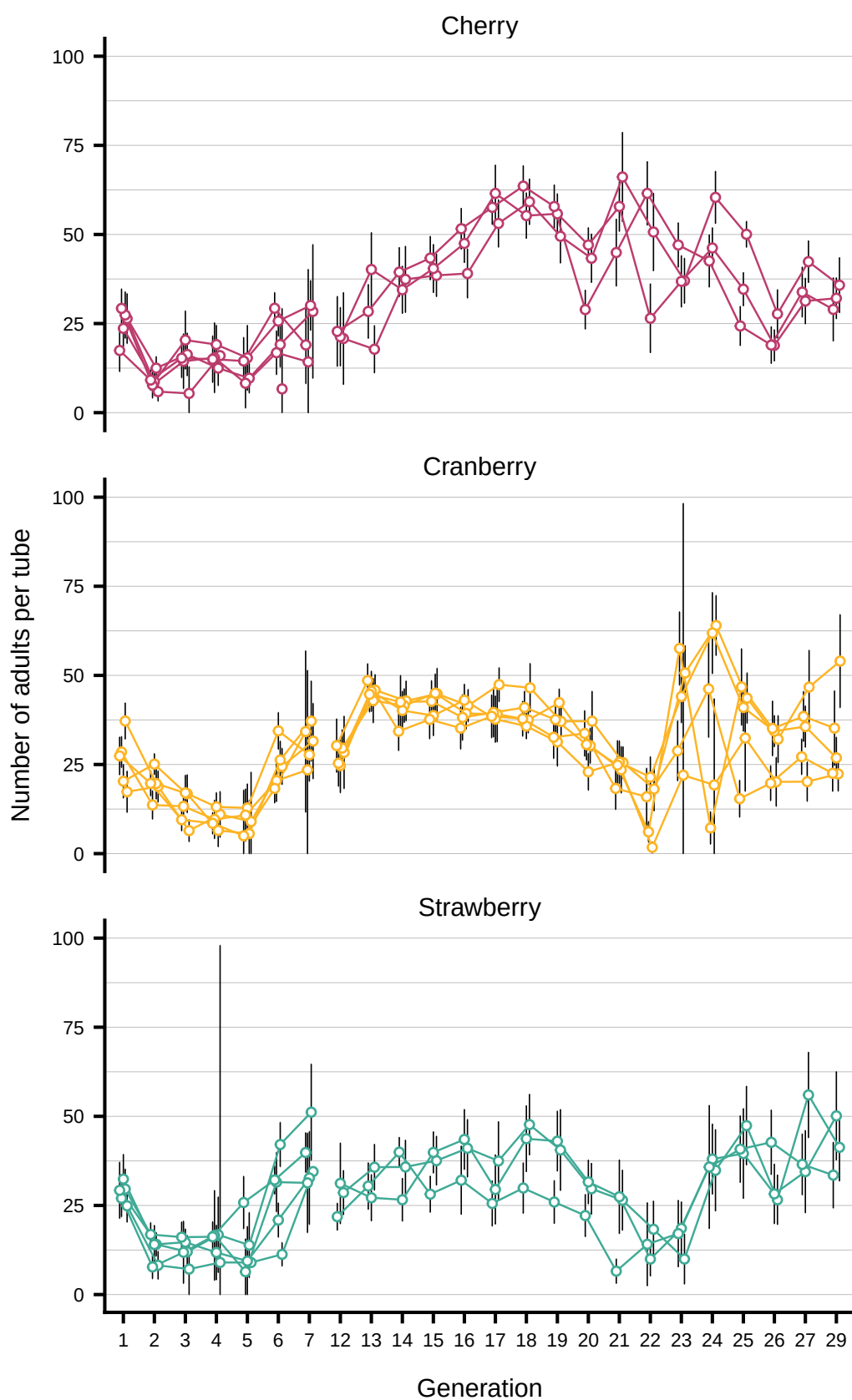


Figure S3 – Evolution of the number of adults produced per tube at each generation on the evolution fruit for the different populations evolved on cherry, cranberry and strawberry.

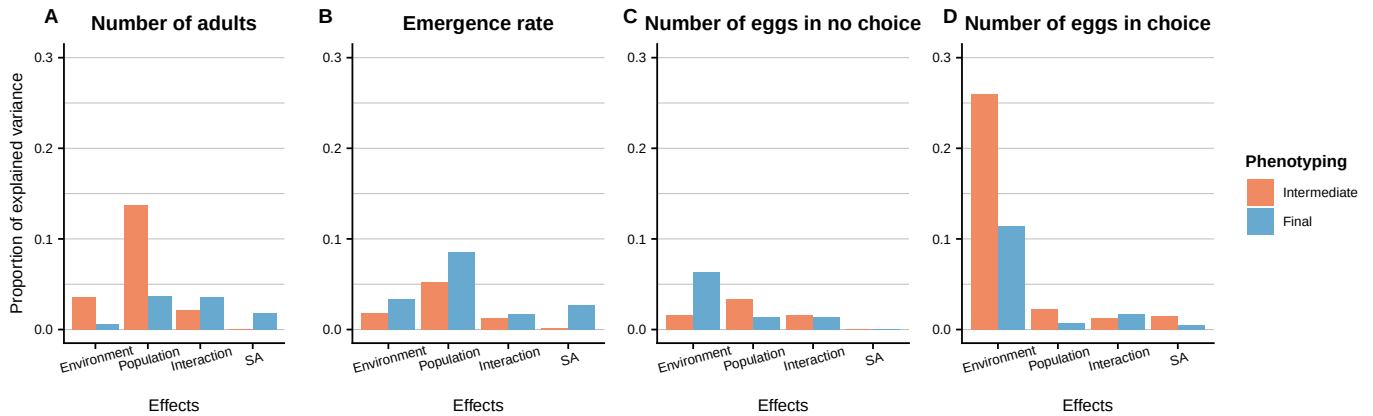


Figure S4 – Proportion of variance explained by different effects on performance (A and B), oviposition stimulation (C) and preference (D) during the intermediate and final phenotyping steps. “Interaction” refers to the interaction between test fruit and evolution fruit (see eq. 3).

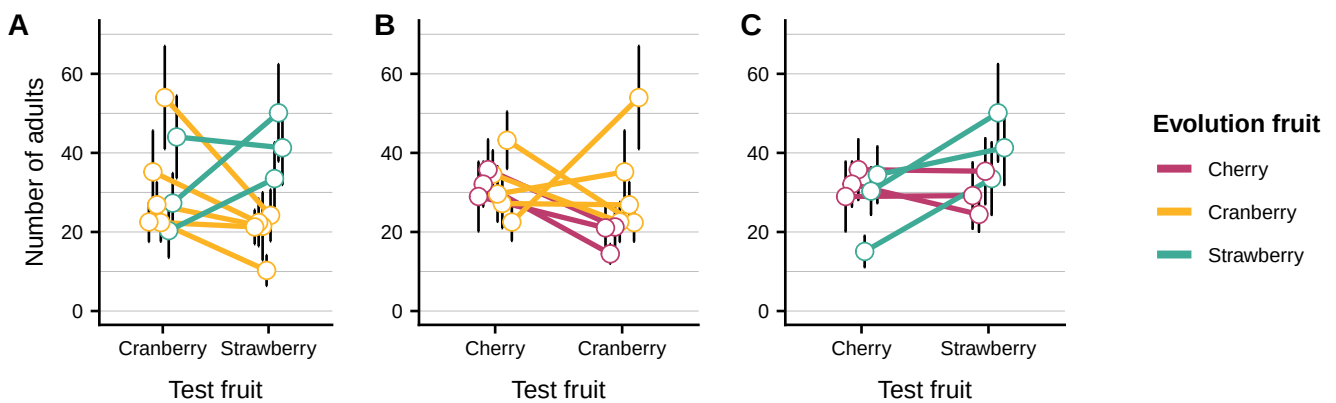


Figure S5 – Relationship between the performance of populations during the final phenotyping step measured in one fruit and in another fruit, for the populations evolved in one of the two fruits. Performance is measured as the number of adults produced in a tube. Cherry *vs.* cranberry (A), cranberry *vs.* strawberry (B) and strawberry *vs.* cherry (C). The dots represents the joint mean with 95% CI error-bars for each population.

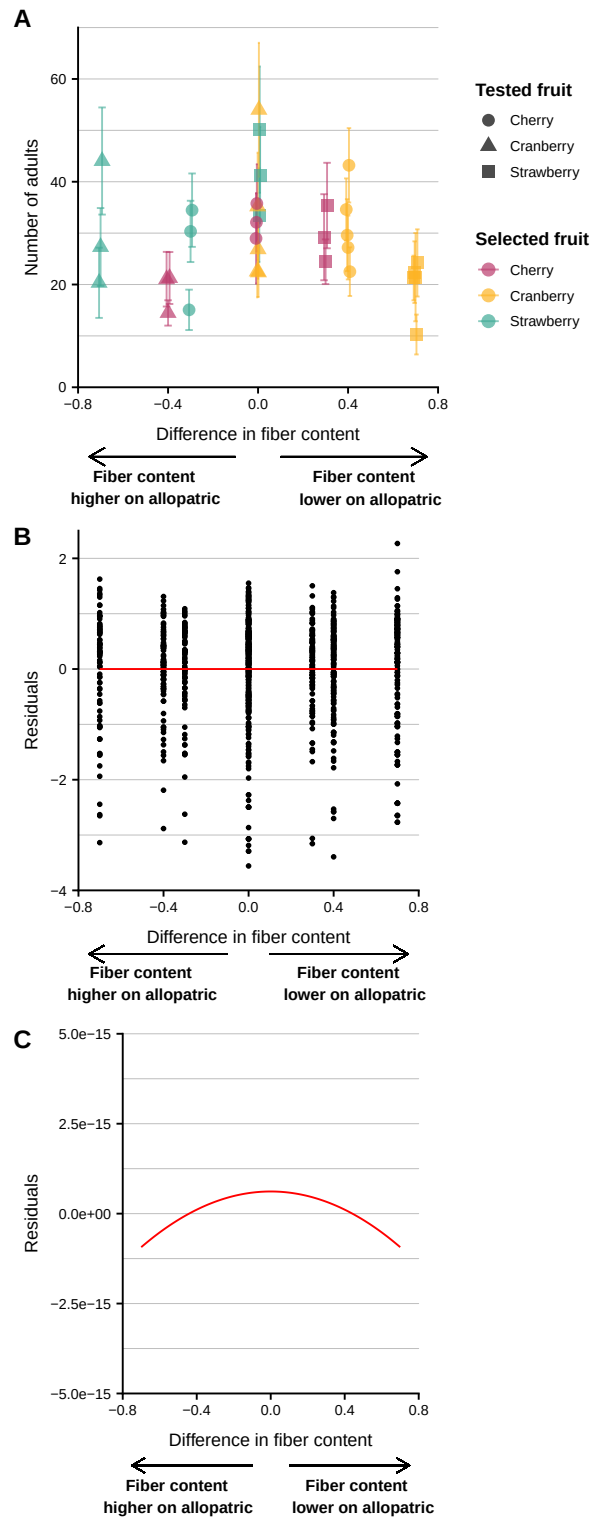


Figure S6– Relationship between the number of emerging adults and the squared difference in fiber content between the evolution fruit and the test fruit during the final phenotyping step. Observed data are shown in panel A where each symbol represents the joint mean of observed data of each population with 95% CI error-bars. Fitted data are shown as a red line in panel B and C (two different y-axis scales). In panel B, circles represent the residuals from a model that only fits population, environment and interaction effects to the number of adults.. The red line represents the fitted line based on a model that fits the squared effect of the difference in fiber content, δ_{ij} , to these residuals.

Chapitre 3

Adaptation et spécialisation d'une espèce généraliste dans un environnement naturel hétérogène

Les populations naturelles de *D. suzukii* utilisent une large gamme d'hôtes et sont donc considérées comme généralistes dans leur aire envahie. Pourtant du fait de leur introduction récente, elles ne sont probablement pas à leur équilibre évolutif. Or, la plupart des modèles théoriques prédisant l'évolution de la spécialisation considère les populations à l'équilibre évolutif. *Drosophila suzukii* représente donc un cas idéal pour étudier l'effet des processus évolutifs contemporains, dans un contexte de déséquilibre évolutif.

Dans la partie précédente, j'ai montré via une expérience d'évolution en laboratoire que lorsque l'environnement est homogène pendant une trentaine de générations, on détecte des compromis entre les différents hôtes utilisés par *D. suzukii*, et donc des signes de spécialisation écologique. L'environnement dans lequel évolue *D. suzukii in natura* est cependant beaucoup plus complexe que celui étudié en laboratoire. En particulier, la disponibilité en hôtes est variable dans le temps et dans l'espace. Les populations naturelles peuvent de ce fait évoluer sur la même plante hôte seulement pendant quelques générations du fait de leur disponibilité contrainte dans le temps (ex. : environ huit semaines pour la saison des cerises, soit environ quatre générations de *D. suzukii*). Étant donné la complexité et le manque de connaissances sur l'environnement dans lequel les populations de *D. suzukii* évoluent, les attendus théoriques sur l'évolution de la spécialisation ne sont donc pas clairs. L'objectif de cette partie est donc de tester si la spécialisation évolue en condition naturelle, au moins transitoirement, en déterminant le niveau d'adaptation locale à la plante hôte de différentes populations naturelles de *D. suzukii* dans une partie de son aire envahie.

Pour tester cela, j'ai réalisé des expériences en transplantation réciproque en mesurant, en conditions contrôlées, les valeurs sélectives des individus provenant de différents hôtes sur chacun de ces mêmes hôtes. Une première année d'expériences préliminaires (six mois) a permis de répertorier les sites d'échantillonnages infestés par *D. suzukii*, et de tester et mettre au point un protocole expérimental de transplantation réciproque. L'année suivante (2018), j'ai pu mesurer différents traits d'histoire de vie sur quatre fruits (via des milieux produits à partir de purée de fruits) pour des mouches provenant de chacun de ces fruits collectés *in natura*. Dans le but d'affiner ces mesures d'adaptation locale, j'ai mesuré les caractères sur les mouches provenant directement des fruits, mais également après deux générations de jardin commun, afin de

distinguer les effets génétiques des effets non-génétiques. Ces résultats sont présentés en détails sous la forme d'un manuscrit intitulé « *Natural populations of the fruit fly *Drosophila suzukii* show local adaptation patterns to alternating host fruits with genetic effects predominating over non-genetic effects* » en préparation pour la revue « *Evolution Letters* ».

Natural populations of the fruit fly *Drosophila suzukii* show local adaptation patterns to alternating host fruits with genetic effects predominating over non-genetic effects

Laure Olazcuaga^{1,5}, Julien Foucaud¹, Candice Deschamps¹, Anne Loiseau¹, Jean-Loup Imbert¹, Romain Vedovato¹, Robin Guilhot¹, Cyril Sevely², Mathieu Gautier¹, Ruth A. Hufbauer³, Nicolas O. Rode^{1,4}, and Arnaud Estoup^{1,4}

Authors affiliation:

¹ CBGP, INRA, CIRAD, IRD, Montpellier SupAgro, Univ Montpellier, Montpellier, France

² Chambre d'agriculture de l'Hérault, Lattes, France

³ Department of Bioagricultural Science and Pest Management and Graduate Degree Program in Ecology, Colorado State University, Fort Collins, CO 80523, USA

⁴ These authors contributed equally to this work.

⁵ Corresponding author: Laure Olazcuaga, E-mail: olaz.laure@gmail.com

Abstract

Both genetic and non-genetic effects can drive the match between phenotypic and environmental variation and hence result in phenotypic patterns of local adaptation. Theory predicts that the relative influence of these effects depends on the scale of temporal heterogeneity relative to generation time and on the scale of spatial heterogeneity relative to dispersal distance. While coarse-grained environments (when environment remains constant for several consecutive generations) are expected to promote local genetic adaptation (*i.e.*, genetic effects), fine-grained environments (when individuals encounter more than one environmental condition throughout their lifetime) favor a more rapid response to selection through adaptive phenotypic plasticity (*i.e.*, non-genetic effects). When the heterogeneity of the environment is spatially and/or temporarily intermediate - with periods of environmental stability from one to only a few generations -, it is unclear how much local genetic adaptation and adaptive phenotypic plasticity contribute to the emergence of phenotypic patterns of local adaptation. Here, we used *Drosophila suzukii* as a model system to evaluate the relative influence of genetic and non-genetic effects on local adaptation patterns in heterogeneous environments with an intermediate environmental grain. This pest species can develop within different fruits, and persists throughout the year in a given location on a succession of different host fruits, each one being available for only a few generations. Reciprocal transplant experiments of natural *D. suzukii* populations collected from different fruits revealed a significant pattern of local phenotypic adaptation to host fruits, with genetic effects (persisting over multiple laboratory generations) predominating over non-genetic effects (observed only during the parental generation sampled in the wild). Our study demonstrates that spatially and temporally variable selection can maintain genetic and phenotypic variation and that contrary to expectations, local genetic adaptation can evolve very rapidly in natural populations. This dynamic process could be partially explained by the potential large effective population size of *D. suzukii* in the wild and the strong selective pressures induced by the host plants.

Key words: adaptive phenotypic plasticity; Drosophila suzukii; genetic effect; host fruits; reciprocal transplant experiment

Manuscript D - Table of contents

1.	Introduction	168
2.	Methods	170
2.1	Population sampling and laboratory maintenance	170
2.2	Reciprocal transplant experiment	171
2.3	Statistical methods	172
3.	Results	174
3.1	Oviposition preference and stimulation	174
3.2	Performance traits: emergence rate and number of adults .	176
4.	Discussion	178
4.1	Local genetic adaptation can emerge in intermediate-grained environments	179
4.2	Non-genetic effects did not have a major contribution to local phenotypic adaptation	180
4.3	Potential non-genetic trans-generational effects	181
4.4	Interaction between evolution of oviposition preference and evolution of performance	182
5.	Conclusions and perspectives	183
	Supplementary materials	185

1. Introduction

Adaptation corresponds to the dynamic process of increased matching of phenotypic features of an organism to its local environmental conditions. Both genetic and non-genetic effects can affect this evolutionary process and result in a pattern of local adaptation whereby the average performance of populations is higher in their environment of origin (*i.e.*, sympatric) than their performance in other environments hosts (*i.e.*, allopatric fruits). Non-genetic effects allow the tracking of environmental change through adaptive phenotypic plasticity over several generations without any genetic changes (*i.e.*, trans-generational plasticity and maternal effects), which can promote establishment and persistence in a new environment (Via and Lande, 1985; Bradshaw, 1965; Gotthard and Nylin, 1995; Ghalambor et al., 2007). In contrast, genetic effects result in the emergence of specialized genotypes through an increased genetic differentiation among populations experiencing spatially heterogeneous selection (Rasanen and Hendry, 2008; Kawecki and Ebert, 2004).

The environmental grain represents the main factor that determine the relative influence of genetic variation (genetic effects) and phenotypic plasticity (non-genetic effects) in driving patterns of local adaptation. It measures the speed at which the environment experienced by an individual changes within its lifetime, due to alteration of the environment itself or to the dispersal of the individual across spatially varying environments. Hence, the environmental grain depends upon the magnitude and frequency of environmental changes, and on the organism's life history traits (*i.e.*, generation time, dispersal rate and distance; Scheiner, 2016; Lande, 2015; Edelaar et al., 2017; Botero et al., 2015; Tufto, 2015; Levins, 1968). We can broadly distinguish two different types of environmental grain. A fine-grained environment refers to situations where individuals encounter more than one environmental condition throughout their lifetime (*e.g.*, when dispersal rates are higher than the levels of spatial heterogeneity). In fine-grained environments, phenotypic plasticity can be favored as it modifies phenotypes more rapidly than selection on standing genetic variation (Tufto, 2015; Gillespie, 1974; Botero et al., 2015; Levins, 1968). Adaptive phenotypic plasticity is expected to evolve when environmental conditions can be assessed through reliable cues (*i.e.*, accurate environmental information about future selection on the expressed plastic phenotype; Jong, 1999; Tufto, 2000; Gavrilets and Scheiner, 1993), and when the benefits of plasticity outweigh its costs (Dewitt et al., 1998; DeWitt and Scheiner, 2004; Pigliucci, 2001). Indeed, maintaining plasticity may require energy and material expenses (*e.g.*, cost of maintaining a sensory and regulatory machinery; Van Buskirk and Steiner, 2009; Auld et al., 2010; Dewitt et al., 1998). In contrast, a coarsed-grain environment refers to situations where the environment remains constant throughout an individual's lifetime or for several consecutive generations (*i.e.*, the generation time is lower than the temporal scale of environmental fluctuations). In a coarse-grained environment, local adaptation and genetic differentiation are expected to evolve as they do not require reliable environmental cues and might be less costly than plastic responses (Auld et al., 2010; Dewitt et al., 1998).

Besides these two extreme cases, phenotypic adaptation to intermediate-grained environments - with periods of environmental stability from one to only a few generations - is expected

to be a combination of genetic and non-genetic effects (Schmid, 1992). Moreover, the relative contributions of genetic and non-genetic effects in local adaptation patterns is expected to change through time, as both the speed of their response to selection and their relative cost-benefits differs. Phenotypic plasticity may at first allow populations to establish and persist in a novel environment (Robinson and Dukas, 1999; Chevin et al., 2010; Price et al., 2003); before adaptive genetic differentiation evolves. If plasticity is costly, the level of plasticity can decrease so that locally adapted phenotypes are only determined by genetic effects (“genetic assimilation”, Ho and Zhang, 2018; Kelly, 2019; Lande, 2009; Waddington, 1961).

Empirical studies evaluating the relative importance of genetic and non-genetic effects on local adaptation pattern in natural populations remain scarce, due to experimental and statistical shortcomings. First, phenotypic adaptations can be hard to track *in natura*. This issue can be tackled by performing reciprocal transplant experiments in the laboratory using populations from different geographical locations to test for local adaptation based on different fitness proxies (Kawecki and Ebert, 2004; Hereford, 2009; Turesson, 1922). Second, deciphering genetic and non-genetic contributions requires to mimic realistic environmental conditions over several generations in the laboratory. Indeed, genetic differentiation (local adaptation) can only be distinguished from adaptive phenotypic plasticity by raising individuals from these populations in the same environment (common garden experiments, Kawecki and Ebert, 2004). Third, while multi-generation laboratory experiments allow estimating both genetic and non-genetic effects, reliable statistical tools to estimate and test their relative contribution to local adaptation patterns are currently lacking.

Phytophagous insects are ideal organisms to investigate the relative contribution of genetic and non-genetic effects on phenotypic adaptation to natural environmental conditions. The host plants of these insects represent heterogeneous resources which vary spatially and temporally in both availability and quality. The spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*, is a generalist crop pest with a broad range of host fruits (Kenis et al., 2016; Walsh et al., 2011; Lee et al., 2011c; Asplen et al., 2015). It persists throughout the year in a given location on a succession of different host species as they become available (Poyet et al., 2015). Hence, wild populations of *D. suzukii* evolve in heterogeneous environments with an intermediate grain with up to a maximum of three or four generations on a given host fruit (estimate based on fruit seasonalities and on *D. suzukii*'s development time on each fruit, Burrack et al., 2013; Olazcuaga et al., 2019a; Poyet et al., 2015). In contrast to most other generalist *Drosophila spp.*, the hosts used by *D. suzukii* are well characterized (Walsh et al., 2011; Lee et al., 2011c). Hence, wild *D. suzukii* meta-populations represent tractable systems to experimentally estimate the relative contributions of genetic and non-genetic effects on patterns of local adaptation.

In the present study, we used natural populations of *D. suzukii* to test for genetic and non-genetic effects on phenotypic patterns of local adaptation to different host fruits. We more specifically addressed the following two questions: 1) Do we observe phenotypic patterns of local adaptation in natural populations evolving in an intermediate-grained environment? 2) What are the relative contributions of non-genetic and genetic effects in driving phenotypic patterns of local adaptation in such intermediate-grained environment?

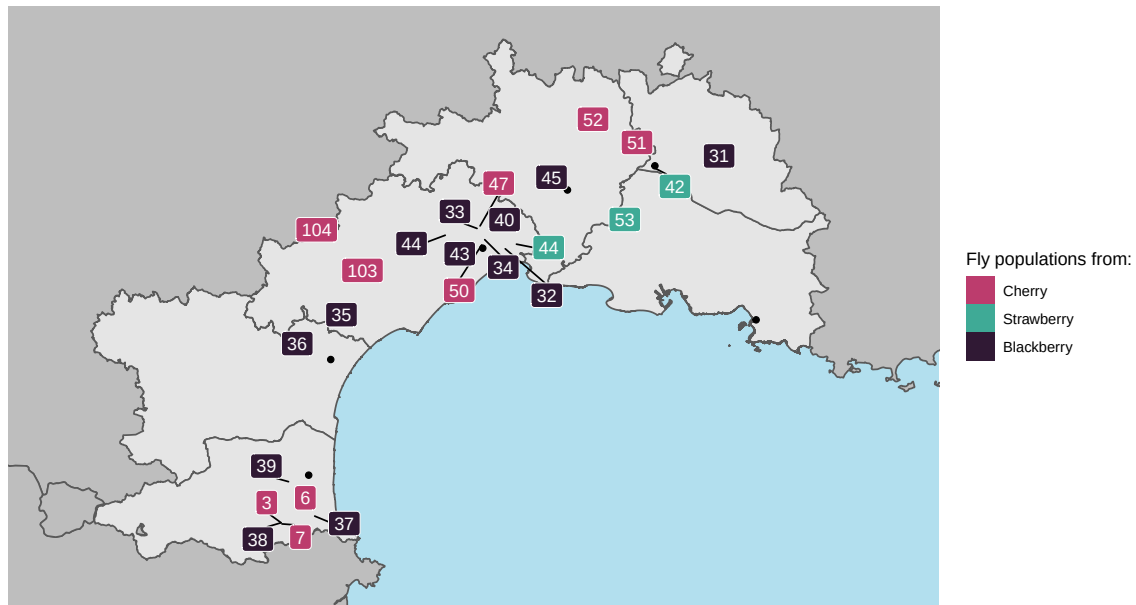


Figure 1 – Geographic location of the 25 *D. suzukii* populations collected in the wild that were subsequently analyzed in the laboratory. See Table S1 for details.

2. Methods

2.1 Population sampling and laboratory maintenance

We investigate the adaptation of natural *D. suzukii* populations to four host plants: *Prunus avium* (cherry), *Fragaria × ananassa* Duch (strawberry), *Rubus fruticosus* (blackberry), and *Vitis vinifera* (grape). We choose these fruit species to represent agronomically important crops (cherry, strawberry and grape) and a wild host fruit considered to be a reservoir species (blackberry; Poyet et al., 2015; Lee et al., 2011c). In the Northern hemisphere, cherry and strawberry are mostly available from the end of the spring to the end of the summer, while blackberry and grape are mostly available from the middle of the summer to the middle of the fall. These four species cover the main active period of *D. suzukii* in the Northern hemisphere (*i.e.*, from May to October; Poyet et al., 2015).

Between May 2018 and October 2018, we collected fruits from a total of 52 sites in an area of approximately 270 km by 50 km in the South of France. The sites sampled included 20, 12, 15 and 5 sites for cherry, strawberry, blackberry and grape respectively; see Fig. 1 and Table S1 for geographical coordinates. For each host plant, fruits were collected towards the end of the production season of the plant to maximize the number of generations over which flies could adapt to each fruit. Field-collected fruits of each population were brought back to the laboratory and kept at 21°C, 65% relative humidity and 18:6 (L:D) hour cycle in large cages (volume 90L) until adult *D. suzukii* flies emerged. These rearing conditions were maintained as such throughout the entire experiment. Only the population samples from which more than 150 individuals

emerged were used for reciprocal transplant experiments. This corresponded to a total of 25 sites, including 9, 3, and 13 populations from cherry, strawberry, and blackberry respectively, and none from grape. As grape is an important component of the mosaic landscape in South of France, we included it as an allopatric fruit in the experiments described below, although only a few flies emerged from our grape samples. Moreover, we included this fruit because the reciprocal transplant of the first populations were carried out before grape was sampled as this fruit occurs later in the season. To have a constant quality of all fruits throughout the experiment (experimental measurements took place over several months), we prepared media using frozen purees of each of the four fruits rather than whole fruit. Briefly, we added to each fruit puree a small amount of agar, inactive yeast and antifungal compound (see Olazcuaga et al. (2019a) for the recipe of the different fruit media used). As these fruits ripen at different times of year, the use of frozen purees allowed us to assay them simultaneously in the laboratory.

2.2 Reciprocal transplant experiment

A summary of the experimental design is represented in Fig. S1. For each sampled population, we kept only *D. suzukii* individuals, by sorting them within two days after their emergence. We performed reciprocal transplant experiments using individuals of this generation (hereafter G1) and using individuals obtained after two generations (hereafter G3) of maintenance in a common environment on standard laboratory fly food (“German food” formulation consisting of sugar, dry yeast, minerals, and antifungal solution; <http://ystocks.bio.indiana.edu/Fly-Work/media-recipes/germanfood.html>). The latter two generations allowed for the standardization of potential maternal and grand-maternal environmental effects. In generations G1 and G3, we placed eight-day-old flies (+/- one day) on artificial fruit media composed of the same fruit (sympatric treatment) or a different fruit (allopatric treatment).

We measured four traits: oviposition preference, oviposition stimulation, emergence rate, and number of adults. We consider the latter two traits related to general phenotypic performance. Oviposition preference was measured as the number of eggs laid by 20 adults in a choice assay. They were placed in a choice arena that contained 12 fruit media to mimic a composite environment and to allow comparing the results with those from a previous experiment that tested for local adaptation after experimental evolution on different fruit media (Olazcuaga et al., 2019b). Oviposition stimulation was measured as the number of eggs laid when placing 20 adults in a tube over 24 hours. Emergence rate was calculated as the number of adults emerged 16 days after oviposition divided by the initial number of eggs (no adult emerged after 16 days). The number of adults was calculated by counting the total number of adults that emerged 16 days after oviposition. For G1 (respectively G3), we used on average 7.8 (respectively 7.9) arenas per population to estimate oviposition preference and an average of 7.7 (respectively 8.0) tubes per populations for the other traits.

As the sampling of fruits follows the seasonality of each fruit, the reciprocal transplant of each population was performed at different dates. To test for potential temporal variability in experimental conditions, we also assayed a control inbred *D. suzukii* line (WT3; Chiu et al., 2013) together with each wild population.

2.3 Statistical methods

All analyses were performed using the R statistical software (R Core Team, 2014). As the number of adults and number of eggs data (oviposition preference and stimulation) were discrete counts data, we log-transformed them prior to analysis (Miller, 1997). For emergence rate (binomial data), we removed 280 and 7 tubes where the number of adults was higher than initial number of eggs for G1 and G3 respectively (from 1073 and 1077 initial tubes for G1 and G3 respectively) and we applied an arcsine square root transformation (McDonald, 2014). We analyzed data using linear models and we added random effects when necessary using the "lme4" package (Bates et al., 2015).

2.3.1 Local adaptation pattern

To test for a local adaptation pattern, we used the method of ‘sympatric–allopatric’ (SA) contrasts (Blanquart et al., 2013). Briefly, this method tests whether the performance of populations in the environment corresponding to their host of origin (*i.e.*, sympatric fruit) is on average higher than their performance in environments corresponding to alternative hosts (*i.e.*, allopatric fruits). Importantly, this method controls for variation in performance due to variation in intrinsic quality among environments and due to variation in genetic background among populations.

For both G1 and G3 independently, we analyzed oviposition stimulation (log-transformed number of eggs laid in no choice assay) and performance (arc-sinus-transformed emergence rate or log-transformed number of adults) y_{ijkl} , measured on each test environment for fruit i ($i = 1, \dots, 4$), for flies emerged from population j ($j = 1, \dots, 25$) of the original fruit host environment k ($k = 1, \dots, 3$), and in each tube l . We fitted the following linear model:

$$y_{ijkl} = test_environment_i + population_j + SA_{ik} + test_environment:original_environment_{ik} + \epsilon_{ijkl} \quad (1)$$

where fixed effects include the test environment ($test_environment_i$), the population ($population_j$), the sympatric *vs.* allopatric effect corresponding to the local adaptation effect (SA_{ik}), and the interaction between the test environments and the original environment ($test_environment:original_environment_{ik}$). The term ϵ_{ijkl} is a random error assumed to be normally distributed with a mean of zero and variance σ_{res}^2 . To test for a significant pattern of local adaptation, we used a two-way ANOVA and computed a F-test statistics (eq. D1 in Blanquart et al., 2013). Statistical significance was assessed against the expected Fisher-Snedecor distribution with degrees of freedom df1 and df2 (see Result section and Table 1 for values of df1 and df2).

For oviposition preference, we also accounted for variation across arenas by adding a random arena effect to equation (1). The log-transformed number of eggs laid in the choice assay, y_{ijkl} , measured on the test environment i ($i = 1, \dots, 12$), for flies from replicate population j ($j = 1, \dots, 25$) of the original environment k ($k = 1, \dots, 3$), in arena l , y_{ijkl} was fitted with a linear mixed model as follows:

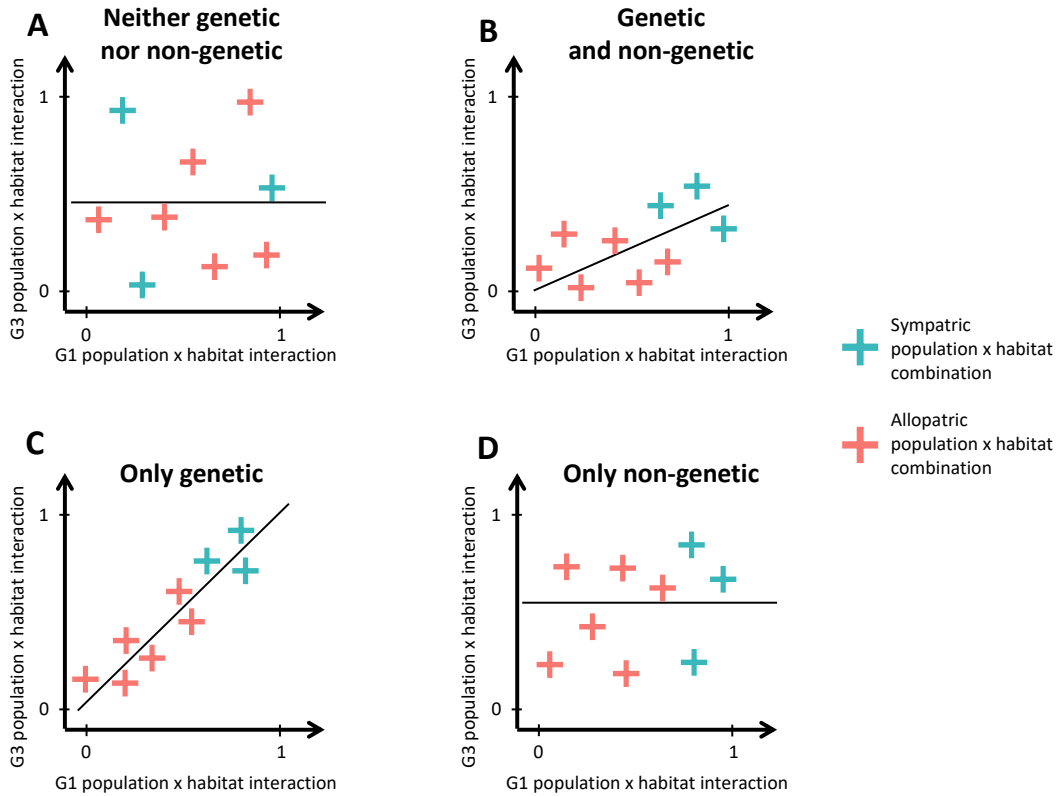


Figure 2 – Expected relationship between the estimates of the interaction between the test environment and original environment at generations G1 and G3 in four situations: A) no phenotypic local adaptation pattern, B) genetic and non-genetic effects influence local adaptation pattern, C) only genetic effects influence local adaptation pattern and D) only non-genetic effects influence local adaptation pattern.

$$y_{ijkl} = test_environment_i + population_j + SA_{ik} + test_environment:original_environment_{ik} + arena_l + \epsilon_{ijkl} \quad (2)$$

where $arena_l$ is the random arena effect assumed to be normally distributed with a zero mean and a variance σ_{arena}^2 and all other terms as defined above.

2.3.2 Genetic vs. non-genetic effects

To estimate the relative influence of genetic and non-genetic effects on phenotypic patterns of local adaptation, we used a two-step statistical procedure for each trait.

First, we plot and estimate the genetic correlation between G1 and G3, $cor_{G1/G3}$, using the estimates of the full interaction between the test and original environments (which correspond to the sum $SA_{ik} + test_environment:original_environment_{ik}$ in Eq. 1 and Eq. 2) in G1 and G3 (Fig. 2). We also estimate the variance of the full interaction between the test and original environments for G1 and G3 separately (σ_{G1}^2 and σ_{G3}^2 respectively) and the genetic covariance between G1 and G3 ($\sigma_{G1/G3}$). To this end, we analyze oviposition stimulation (log-transformed

number of eggs laid in no choice environment) and larval performance (arc-sinus-transformed emergence rate or log-transformed of number of adults) y_{ijkl} , measured on each test environment i ($i = 1, \dots, 4$), for flies emerged from the replicate population j ($j = 1, \dots, 25$) of the original environment k ($k = 1, \dots, 3$), and in each tube l , for each generation m ($m = G1$ or $G3$). With G1 and G3 data together, we fit the following linear model:

$$\begin{pmatrix} \text{test_environment:original_environment}_{ijG1} \\ \text{test_environment:original_environment}_{ijG3} \end{pmatrix} \sim \mathcal{N} \left(\begin{pmatrix} 0 \\ 0 \end{pmatrix}; \Sigma \right) \quad (3)$$

$$\Sigma = \begin{pmatrix} \sigma_{G1}^2 & \sigma_{G1/G3} \\ \sigma_{G1/G3} & \sigma_{G3}^2 \end{pmatrix}$$

where σ_{G1}^2 and σ_{G3}^2 are the genetic variances among the interactions between the difference combination of test and original environments for G1 and G3 respectively, and $\sigma_{G1/G3}^2$ is the genetic covariance between the G1 and G3 interactions. The 95% confidence intervals of the σ_{G1}^2 , σ_{G3}^2 , $\sigma_{G1/G3}^2$ and $cor_{G1/G3}$ are computed by bootstraps based on 1000 sampling iterations using the “bootMer” function (Bates et al., 2015). For the oviposition preference, the parameters σ_{G1}^2 , σ_{G3}^2 , $\sigma_{G1/G3}^2$ and $cor_{G1/G3}$ are estimated similarly by adding a random arena effect ($\mathcal{N}(0, \sigma_{arena}^2)$) to Eq. 3.

Second, we develop a new method to dissociate genetic from non-genetic effects based on the F-test proposed by Blanquart et al. (2013). We test for genetic and non-genetic effects on local adaptation patterns by defining $F_{genetic}$ and $F_{non-genetic}$ tests based on Eq 3. $F_{genetic}$ (respectively $F_{non-genetic}$) is computed by dividing the estimate of the SA_{ik} (respectively SA_{ikG1}) by the squared standard error of SA_{ik} (respectively SA_{ikG1}). This approach is equivalent to the ANOVA design proposed by Blanquart et al. (2013) when the design of the reciprocal transplant experiment is balanced. Statistical significance was assessed against the expected Fisher-Snedecor distribution with degrees of freedom $df1$ and $df2$. The evaluation of the statistical power and false positive rates of these new statistics through simulations shows that, at least in a basic experimental setup, they can test and estimate the relative importance of genetic and non-genetic effects on local adaptation patterns (Supplementary Appendix S1). Nevertheless, to confirm the applicability of this method, we need to test its statistical power under the same experimental setup (characterized by an unbalanced design).

3. Results

For all traits studied, we could not estimate the significance of the relative influence of genetic and non-genetic effects on phenotypic patterns of local adaptation using $F_{genetic}$ and $F_{non-genetic}$, because the model based on Eq. 3 did not converge.

3.1 Oviposition preference and stimulation

In the choice assay, both G1 and G3 female flies laid more eggs on the fruit medium corresponding to their sympatric environment than on media corresponding to allopatric environments, indicating a significant local adaptation pattern of oviposition preference (Fig. 3; $F_{1,21} = 4.48$, P

Table 1 – Tests at generations G1 and G3 for local adaptation pattern for two preference traits (oviposition preference and oviposition stimulation) and two performance traits (emergence rate and number of adults).

Generation	G1	G3
Oviposition preference		
$F_{1,21}$	4.48	6.32
P -value	0.046	0.020
Number of eggs		
$F_{1,5}$	1.36	1.53
P -value	0.296	0.271
Emergence rate		
$F_{1,5}$	10.49	76.99
P -value	0.023	<0.001
Number of adults		
$F_{1,5}$	0.11	9.33
P -value	0.758	0.028

= 0.046 and $F_{1,21} = 6.32$, $P = 0.020$ for G1 and G3, respectively). Note that when we kept data only for cherry, strawberry or blackberry test environment (9 allopatric environment removed, from 12 initially), these results remained unchanged only for G3 measures ($F_{1,3} = 1.88$, $P = 0.26$ and $F_{1,3} = 11.55$, $P = 0.042$ for G1 and G3, respectively). Importantly, our statistical procedure account for intrinsic difference in attractiveness among fruits (e.g., cherry and cranberry were the most and the least preferred fruits respectively; Fig. S2). When analyzing the datasets separately, the G1 and G3 estimates of the interaction between the test and original environments were significantly correlated (Fig. 4A, $t = 2.375$, $df = 34$, $r = 0.377$, $P = 0.023$), indicating a genetic correlation between G1 and G3. When using a dataset combining the G1 and G3 data, the model based on Eq. 3 did not converge. Consequently, the estimation of this genetic correlation with this model was unreliable ($cor_{G1/G3} = -1 \pm 0.06$). The variance of the interaction between the test and original environments was lower for G1 than for G3 (Fig. 4A; $\sigma_{G1}^2 = 0.0004 \pm 0.002$ and $\sigma_{G3}^2 = 0.032 \pm 0.014$). This unexpected result might be caused by an increased sampling error of G1 variance component due to the lower number of eggs laid in G1 (mean = 0.74 eggs laid per compartment) than in G3 (mean = 15.08 eggs laid per compartment) G1.

In the no choice assay, flies did not lay more eggs on sympatric than allopatric environments (Table 1, Fig. S3; $F_{1,5} = 1.36$, $P = 0.30$ and $F_{1,5} = 1.53$, $P = 0.27$ for G1 and G3, respectively). When analyzing the datasets separately, the G1 and G3 estimates of the interaction between the test and original environments were not correlated (Fig. 4B, $t = 1.418$, $df = 10$, $r = 0.409$, $P = 0.187$). When using a dataset combining the G1 and G3 data, the model based on Eq. 3 did not converge and consequently the estimate of the genetic correlation with this model was unreliable (Table 2, $cor_{G1/G3} = 1 \pm 0.67$). The variance of these estimates was higher for G1 than for G3 (Table 2, Fig. 5B, $\sigma_{G1}^2 = 0.018 \pm 0.02$ and $\sigma_{G3}^2 = 0.0008 \pm 0.005$), indicating potential additional non-genetic effect in G1.

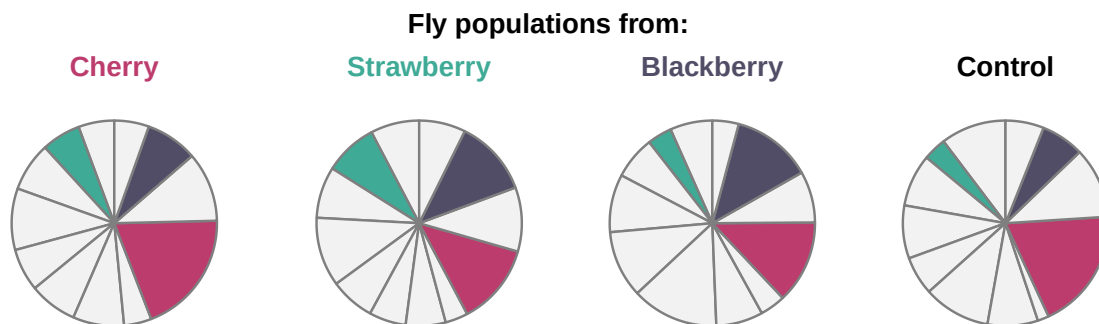


Figure 3 – Proportions of eggs laid on cherry (pink), strawberry (green) and blackberry (purple) in a choice environment experiment including 12 fruit medium for fly populations from different host fruits, measured at the generation G3. The proportions are given for fly populations which emerged from cherry (first left), strawberry (middle left), blackberry (middle right), and for the control WT3 line (right). The ranking of fruit in the pie is always the same: apricot, blackberry (purple), blackcurrant, cherry (pink), cranberry, fig, grape, kiwi, raspberry, rose hips, strawberry (green), tomato (in alphabetical order).

3.2 Performance traits: emergence rate and number of adults

In both G1 and G3, adults emerged on average at higher rates in sympatric than in allopatric environments (Table 1, Fig. 5A and 5B, $F_{1,5} = 10.49$, $P = 0.023$ and $F_{1,5} = 76.99$, $P < 0.001$ for G1 and G3, respectively). Note that these results remained qualitatively unchanged when removing data from the grape allopatric environment ($F_{1,3} = 11.10$, $P = 0.045$ and $F_{1,3} = 54.04$, $P = 0.005$ for G1 and G3, respectively). This pattern of local adaptation was especially perceptible for populations from blackberry and strawberry (Fig. 5B). Surprisingly, the G1 and G3 estimates of the interaction between the test and original environments were not significantly correlated, when analyzing the datasets separately (Fig. 4C, $t = 1.499$, $df = 10$, $r = 0.428$, $P = 0.165$). The variance of the interaction between the test and original environments appeared higher in G1 than in G3 (Fig. 4C), indicating potential additional non-genetic effects in G1. When analyzing the dataset combining G1 and G3 data, the model based on Eq. 3 did not converge and the estimate of the genetic correlation was hence unreliable ($cor_{G1/G3} = -1 \pm 0.93$). As seen on Fig. 4C, the variance estimate were larger in G1 than in G3 (Table 2, $\sigma_{G1}^2 = 7.8 \times 10^{-4} \pm 0.002$ and $\sigma_{G3}^2 = 3.2 \times 10^{-6} \pm 0.0006$). However, because the model did not converge (Table 2, $cor_{G1/G3} = -1$), we could not estimate genetic and non-genetic effects on local adaptation patterns.

The number of adults that emerged in sympatric environments was significantly higher than in allopatric environments in G3, but not in G1 (Fig. 5C and 5D, Table 1, $F_{1,5} = 0.11$, $P = 0.76$ and $F_{1,5} = 9.33$, $P = 0.028$ for G1 and G3, respectively). These results were qualitatively similar when removing data from grape allopatric environment ($F_{1,3} = 0.08$, $P = 0.80$ and $F_{1,3} = 9.79$, $P = 0.052$ for G1 and G3 respectively). Again, this pattern was especially perceptible for fly populations from blackberry and strawberry (Fig. 5D). When analyzing the datasets separately, the G1 and G3 estimates of the interaction between the test and original environment were significantly correlated (Fig. 4D, $t = 3.375$, $df = 10$, $r = 0.730$, $P = 0.007$), indicating a genetic correlation between G1 and G3. When analyzing the dataset combining G1 and G3 data, the model based on Eq. 3

Table 2 – Variance analyses at generation G1 and G3 for two preference traits (oviposition preference and oviposition stimulation) and two performance traits (emergence rate and number of adults). We provide estimates of the variance of the interaction between the tested environments and the original environment for G1 and G3 (σ_{G1}^2 and σ_{G3}^2 respectively), the covariance between G1 and G3 ($\sigma_{G1/G3}$), and the correlation between G1 and G3 ($cor_{G1/G3}$), the later quantity corresponding to the genetic correlation calculated with Equation 3. The SE values are the standard errors of these values calculated using bootstrap by performing 1000 sampling iterations.

Trait	Estimates	SE
Oviposition preference		
σ_{arena}^2	0.206	0.022
σ_{G1}^2	0	0.002
σ_{G3}^2	0.032	0.014
σ_{resid}^2	0.738	0.016
$\sigma_{G1/G3}$	-0.003	0.005
$cor_{G1/G3}$	-1	0.058
Oviposition stimulation		
σ_{G1}^2	0.019	0.021
σ_{G3}^2	0.001	0.006
σ_{resid}^2	0.612	0.022
$\sigma_{G1/G3}$	0.004	0.008
$cor_{G1/G3}$	1	0.861
Emergence rate		
σ_{G1}^2	0.001	0.002
σ_{G3}^2	0	0.001
σ_{resid}^2	0.079	0.003
$\sigma_{G1/G3}$	0	0.001
$cor_{G1/G3}$	-1	0.934
Number of adults		
σ_{G1}^2	0.013	0.017
σ_{G3}^2	0	0.005
σ_{resid}^2	0.557	0.02
$\sigma_{G1/G3}$	0.002	0.007
$cor_{G1/G3}$	1	0.9

did not converge and consequently the estimate of the genetic correlation with this model was unreliable (Table 2, $cor_{G1/G3} = 1 \pm 0.90$, Eq. 3). When analyzing the datasets separately, the variance of the interaction between the test and original environments appeared higher in G1 than in G3 (Fig. 4D), indicating potential additional non-genetic effects in G1. These results were confirmed when analyzing the combined dataset (Table 2, $\sigma_{G1}^2 = 0.01 \pm 0.02$ and $\sigma_{G3}^2 = 0.00003 \pm 0.0006$). However, because the model did not converge (Table 2, $cor_{G1/G3} = -1$), we could not estimate genetic and non-genetic effects on local adaptation patterns.

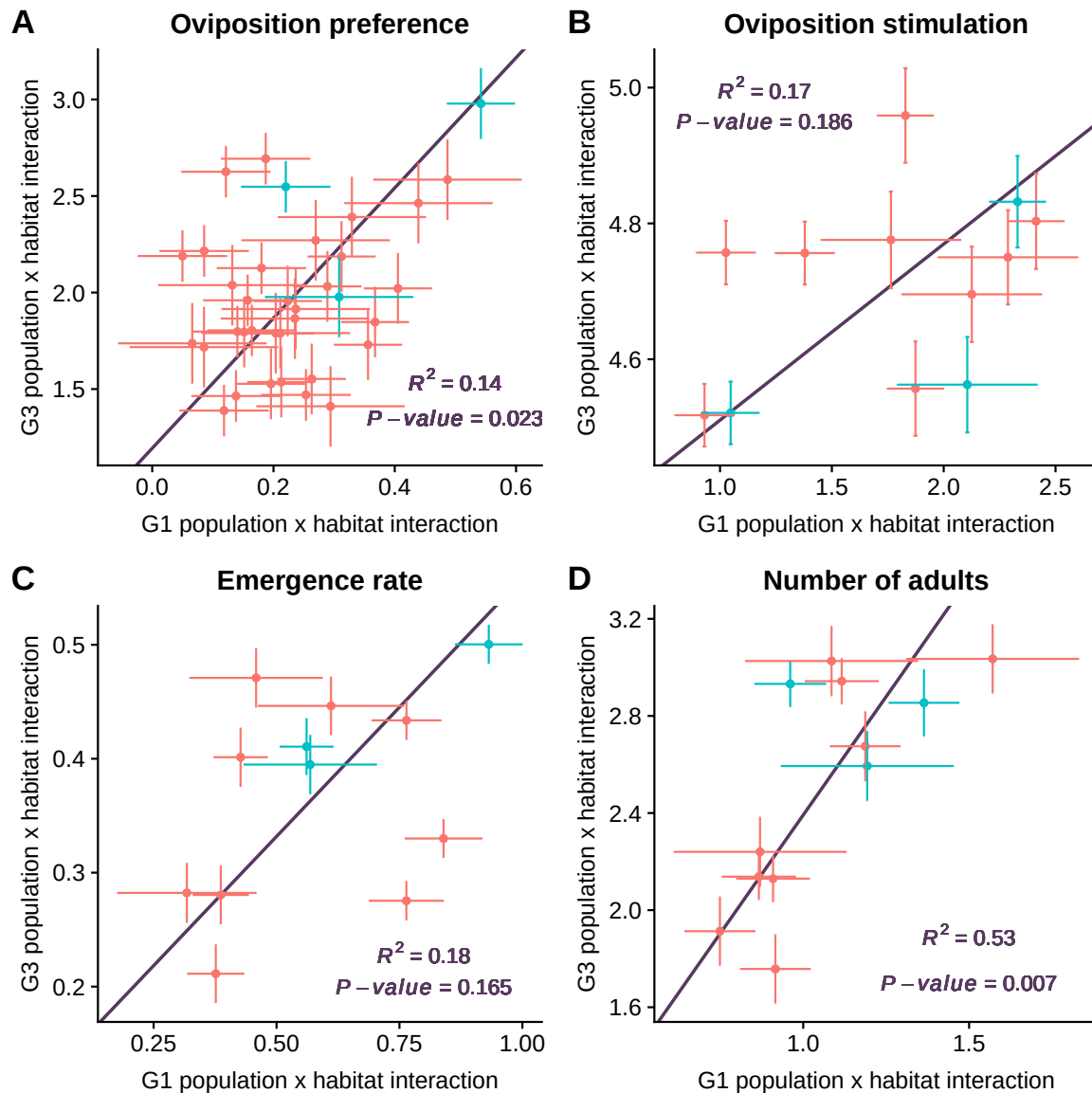


Figure 4 – Relationship between the estimates of the interaction between the test environment and original environment at generations G1 and G3, for oviposition preference (A), oviposition stimulation (B), emergence rate (C) and number of adults (D). The sympatric interactions (*i.e.*, when the test environment corresponds to the original environment) are represented in green color. Dots correspond to the interaction of the four tested environments with the three original environments, for all traits, except for oviposition preference, where there were 12 tested environments with three original environments. The P -value and R^2 values of the correlation of the interaction between the test and original environments at generations G1 and G3 are provided. The straight line represents the slope of the linear regression.

4. Discussion

Instead of an all-plastic, jack-of-all-trade species thriving on rather unchallenging host fruits throughout the year, our results depict *D. suzukii* as a generalist species damaging a range of challenging hosts through repetitive bouts of fast genetic adaptation.

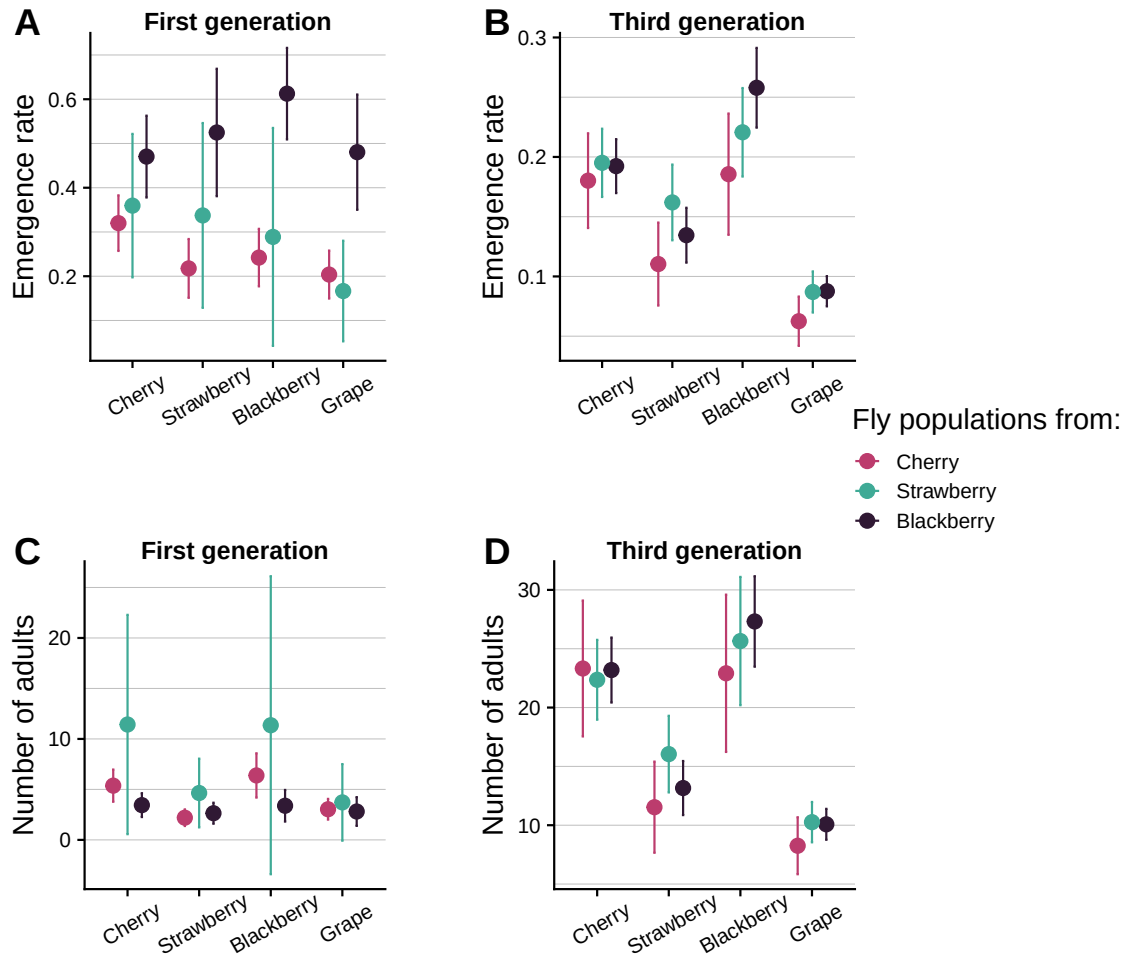


Figure 5 – Emergence rate (A-B) and number of adults (C-D) by fruit media for the fly populations from different host fruits, at both G1 (A-C) and G3 (B-D) generation. The dot represents the mean with 95% CI error-bars for each population. These values were estimated from nine populations from cherry, three from strawberry, and 13 from blackberry.

4.1 Local genetic adaptation can emerge in intermediate-grained environments

While phenotypic adaptation to a novel environment can be a rapid phenomenon (Reznick and Ghalambor, 2001), it is generally assumed that genetic differentiation and local adaptation evolve over dozens of generations (Bone and Farres, 2001; Hendry and Kinnison, 2001; *e.g.*, Reznick, 1997). Here, we show that the generalist phytophagous species, *D. suzukii*, can rapidly adapt to a new host fruit in seasonally heterogeneous environments (*i.e.*, in an intermediate-grained environment). After two generations in a common garden environment, oviposition preference, emergence rate and number of adults were significantly higher on the sympatric host, from which the original populations were collected, than on alternative allopatric hosts. Based on average temperatures in the studied areas and host fruit seasonality features and lab data regarding generation time, the number of generations on each host should be lower or equal to four. This

suggests that the evolutionary process of local adaptation can be more rapid than traditionally perceived.

This dynamic process, with fast genetic adaptation, could be explained in part by the demographic features of *D. suzukii* populations in the wild. Fitness-associated traits are expected to have larger standing genetic variation in populations with large effective population size (Hartl and Clark, 1997). It is known that adaptation can occur rapidly given high enough levels of standing genetic variation (Barrett and Schluter, 2008; Roff, 1997; Lande and Shannon, 1996; Dobzhansky, 1947). Our results suggest that the size of *D. suzukii* populations is very large. Although estimating population sizes is a difficult task, rough population size estimates of *D. suzukii* during the peak harvest period of cherries point to more than 10 000 individuals in orchards located in California, North Carolina and Oregon (USA) in 2012 and 2013 (Wiman et al., 2016; Tochen et al., 2014). The population sizes in the region of interest (*i.e.*, South of France in 2018) are unknown but they are likely very high. Let's imagine that an orchard produces about 1 ton of cherries, 50% of them being infested (LaTapy pers. com.). Assuming a single larva per fruit and a 10% survival rate until reproduction (*i.e.*, the lowest observed in this study), population size in a single orchard is of the order of 10^4 . In agreement with this back of envelope computation, a recent population genetics study based on microsatellite loci have shown high level of heterozygosity in population samples collected in the South of France (Frainout et al., 2017).

The detection of local adaptation patterns indicates that our experimental design allows mimicking realistic environmental conditions in the laboratory to examine oviposition preference and emergence rates. The chemical composition of fruits, here represented by fruit puree media, hence plays a role in the local adaptation of natural populations for these traits. In contrast, we did not find any significant pattern of local adaptation regarding oviposition stimulation (number of eggs laid in tubes). This trait may not be selected for the local adaptation of fruits. Alternatively, the fruit puree media we used did not resemble natural environmental conditions. The oviposition stimulation is particularly influenced by special characteristics of the host fruit, such as the skin of the fruits (*e.g.*, Burrack et al., 2013), that are clearly not considered when using media based on fruit purees.

4.2 Non-genetic effects did not have a major contribution to local phenotypic adaptation

Our study suggests that many of the populations sampled *in natura* exhibited non-genetic variation for many of the traits studied. Indeed, interactions between origin and test environments were larger in G1 than in G3 for all investigated traits, except oviposition preference. However, these non-genetic effects did not explain a large part of local adaptation patterns as genetic effects did, as we never detected local adaptation pattern only in G1 which would suggest substantial non-genetic effects. Moreover, when we detected local adaptation patterns both in G1 and G3, we found a significant genetic correlation between G1 and G3 for most of the trait studied. Hence, our results indicate that most of local adaptation patterns detected, have a genetic basis.

A first hypothesis could be that non-genetic effects only weakly influence the process of phenotypic adaptation to host fruits in natural populations. For behavioral traits such as oviposition preference, cues indicating environmental change may be lacking. Environmental changes hence become unpredictable, precluding the evolution of adaptive phenotypic plasticity (Tufto, 2000; Reed et al., 2010; Jong, 1999; Gavrillets and Scheiner, 1993). This explanation appears however unlikely, especially because (i) seasonal environments generally do not lack reliable cues indicating fitter choices (Shearer et al., 2016) and (ii) *Drosophila* species usually excel at using those cues to optimize host choices (Papaj and Rausher, 1983; Jaenike, 1983). A second hypothesis could be that non-genetic effects may occur only transiently right after the colonization of a new host and be absent at the time we collected our samples in the field (*i.e.*, at the end of each fruit season). In this case non-genetic effects might serve as a preliminary response that enable populations to persist in novel environments, and later be replaced by a similar adapted phenotype driven by genetic changes (genetic assimilation, Kelly, 2019; Baldwin, 1896). Assuming that plasticity could be costly (Auld et al., 2010; Van Buskirk and Steiner, 2009; Dewitt et al., 1998), a decrease in phenotypic plasticity would have been concurrent with the evolution of local genetic adaptation (Waddington, 1961). As we did not detect predominant non-genetic effects in our experiment, that would mean that in our situation plasticity is probably more costly than advantageous (Lande, 2009). This hypothesis could be tested by quantifying the change over time in the relative importance of genetic and non-genetic effects, using temporal samples spanning the entire fruit season. A third hypothesis could also be that the poor evidence for non-genetic effects reflect a lack of statistical power at generation G1. Substantially fewer adults and fewer eggs were indeed measured at G1 than at G3. Finally, a fourth hypothesis could be that non-genetic effects are associated, at least partly, with host fruit features not considered in our experimental design, for instance skin thickness and color of the fruit skin or size and shape of the fruit. It is possible, if not likely that using fruit purees excludes some olfactory and visual cues involved in host detection. In agreement with this, chemoreception of volatile compounds were found to affect oviposition choices of *D. suzukii* (Karageorgi et al., 2017; Abraham et al., 2015).

4.3 Potential non-genetic trans-generational effects

Some non-genetic trans-generational effects could account for the local adaptation pattern we detected and for the positive correlation between G1 and G3 estimates of the interaction between the test and original environments. Indeed, even if parental and grandparental effects were standardized, some trans-generational effects may remain and influence preference and performance over several generations. In many plant taxa and several animal species, environmental parental effects have been shown to persist for more than two generations (Holeski et al., 2012; Becker and Weigel, 2012). To our knowledge, grand-grandparent (and beyond) environmental effects have never been investigated in wild populations and are expected to be small (see: Shama and Wegner, 2014; Lock, 2012; Herman et al., 2012 for grandparental effects).

Microbial symbionts present on fruit surface and transmitted across generations represent non-genetic effects that could contribute to phenotypic local adaptation patterns observed in G3. Microbiota specific to each fruit host could be transmitted across generations (as observed

in *D. melanogaster*; Farine et al., 2017), and hence be wrongfully included in our genetic effects. Some symbionts, including yeast, bacteria and mold, are known to affect the way several herbivorous insects utilize their host plant (*e.g.*, facilitating the digestion of plant polymers and the detoxification of plant-produced toxins ; Moran, 2007; Hansen and Moran, 2014) and adaptation to their host (Jaenike et al., 2010; Hauffe and Barelli, 2019). More specifically, in several *Drosophila* species (Yuval, 2017; Walsh et al., 2017), including *D. suzukii* (Lewis and Hamby, 2019; Bellutti et al., 2018), microbiota were found to influence oviposition preference and performance traits. The phenotypic influence of micro-organisms can be addressed by removing them from flies (*e.g.*, Little and Ebert, 2000) or by quantifying the variation in the composition of micro-organism communities across different host populations and statistically correcting for it (*e.g.*, Osnas and Lively, 2004). Further studies removing microbiota from flies or accounting for the variation in microbial community composition across fly populations will help evaluate the potential impact of microbiota on local adaptation patterns. Overall, while these potential limitations for interpreting our results are real, non-genetic effects that would be faithfully transmitted for as long as two generations in a common garden assay could be argued to more closely relate to true genetic effects than to non-genetic effects.

4.4 Interaction between evolution of oviposition preference and evolution of performance

Previous studies failed to find a correlation between preference and performance traits investigated in laboratory populations of *D. suzukii* (Poyet et al., 2015; Olazcuaga et al., 2019a). By contrast, the present study shows that both the evolution of performance and the evolution of oviposition preference over only a few generations are strongly correlated *in natura*. A recent study by Olazcuaga et al. (2019b) has shown that local adaptation patterns evolve after more than six generations in experimental laboratory populations of *D. suzukii* adapting to different host fruits (including strawberry and cherry). Preference traits did not respond to selection and performance traits show local adaptation patterns after approximately 30 generations of continued experimental selection. Most importantly the experimental design associated with the later study did not include any type of host choice selective pressure as well as any gene flow among populations. Our study of natural populations of *D. suzukii* suggests that, at least in a wild context, selection pressures on oviposition preference might be a strong driver of host fruit adaptation and could speed up local adaptation. This is consistent with previous theoretical and experimental studies showing that selection pressures on oviposition preference could feedback positively on the evolution of performance for the local host (Berlocher and Feder, 2002; Via and Hawthorne, 2002; Whitlock, 1996). In particular, if preference and performance traits are genetically linked, strong selection pressures on oviposition preference, at least for the three fruits studied here, could lead to the evolution of performance traits (Berner and Thibert-Plante, 2015; Wood et al., 1999).

5. Conclusions and perspectives

Our study shows that, even if the grain of environmental heterogeneity is intermediate, genetic differentiation remains the main driver of phenotypic patterns of local adaptation of *D. suzukii* to host fruits. This suggests that genetic adaptation to local environmental conditions is a very dynamic process in this species, which evolves over less than four generations. While some studies found rapid adaptation over seasonal time scales in wild populations of *D. melanogaster* (Bergland et al., 2014), this case study allows to test adaptation to finer scale of heterogeneity (four generations *vs.* a dozen of generations). In our case, adaptation of *D. suzukii* seems to follow the phenology of host plants. This dynamic process seems to be repetitive bouts of fast genetic adaptation allowing to use a range of challenging hosts. Our experimental study contributes improving the knowledge regarding the relative importance of genetic and non-genetic effects on local adaptation pattern in natural populations with heterogeneous environment and opens up new avenues regarding this topic. In particular, using temporal samples spanning the entire fruit season would help better understanding whether non-genetic effects play a role in the process of local phenotypic adaptation to host plant. It would also be of particular interest to assess whether such dynamics are modulated by the spatio-temporal distribution of host plants. Finally, a stimulating perspective of the present work lies in the characterization of the genetic basis and physiological pathways involved in the observed adaptation pattern. A genome-environment association study based on populations sampled from different host plants might provide useful insights regarding this question.

Data accessibility

Data will be archived on Dryad upon acceptance.

Author's contributions

Conceptualization and funding acquisition: L.O., J.E., M.G., R.A.H., N.O.R. and A.E.; Statistical analyses and writing: L.O. with inputs of J.E., M.G., R.A.H., N.O.R. and A.E.; Data acquisition and field sampling: L.O., C.D., A.L., J-L.I., R.V., R.G., C.S. and A.E.

Acknowledgments

We are grateful to V. Ravigné and B. Facon for insightful discussions, P. Audiot, M.P. Chapuis, L. Benoit, N. Vieira, J. Froissard, A. L. Clamens, S. Nidelet and L. Sauné for technical assistance, S. Bonamour for her comments on the manuscript, V. Cazalis and R. Patin for their help with drawing map, and to the Sicol cooperative for providing us with some fruit purees. L.O., M.G., J.E. and A.E. were supported by the Languedoc-Roussillon region (France) through the European Union program FEDER FSE IEJ 2014-2020 (project CPADROL) and the INRA scientific department SPE (AAP-SPE 2016). R.A.H. acknowledges support from the National Science Foundation (DEB-0949619), USDA Agriculture and Food Research Initiative award (2014-67013-21594), Hatch project 1012868, the French Agropolis Fondation (LabEx Agro-Montpellier) through the AAP "International Mobility" (CfP 2015-02), the French programme investissement d'avenir, and the LabEx CEMEB through the AAP "invited scientist 2016". N.O.R. acknowledges support from the CeMEB LabEx/University of Montpellier (ANR-10-LABX-04-01).

Supplementary materials

Appendix 1: Statistical power of the new tests based on F_{genetic} and $F_{\text{non-genetic}}$

1. Motivation

Reliable statistical tools to estimate and test for the relative importance of genetic and non-genetic effects on local adaptation patterns are currently lacking. We developed a new statistical test to estimate and test for genetic and non-genetic effects based on a modified version of the F -test proposed by Blanquart et al. (2013). Here, we evaluate the statistical power of these tests.

2. Methods

Multi-generation data over multiple-generation placed in different environments are required to discriminate genetic from non-genetic fitness effects. We assume that N is the number of environments in which each population is sampled. We simulated fitness data from a reciprocal transplant experiments carried out at two different generations with n individuals transplanted for each combination of population and environments. In the first generation (G1), realized fitness is affected by genetic effects, non-genetic effects and random environmental effects affect phenotype. In the third generation (G3), realized fitness is affected by genetic effects and random environmental effects.

In G1, the realized fitness, y_{ijk} , of an individual k from population i placed in habitat j is simulated as follows:

$$y_{ijk} = \text{genetic}_{ij} + \text{non-genetic}_{ij} + \epsilon_{ijkl} \quad (1)$$

where the terms genetic_{ij} and non-genetic_{ij} respectively corresponds to a random genetic and non-genetic interactions between population and environment which follow two multivariate normal distributions with zero-mean vector and variance-covariance matrix Σ_G and Σ_{NG} (whose both dimensions are equals to the number of habitat, N , and whose structures are compound symmetric with variances $\sigma_{\text{genetic}}^2$ and $\sigma_{\text{non-genetic}}^2$ respectively and covariances $\rho_{\text{genetic}}\sigma_{\text{genetic}}^2$ and $\rho_{\text{non-genetic}}\sigma_{\text{non-genetic}}^2$ respectively) and the ϵ_{ijkl} term is a random error assumed to be normally distributed with a mean of zero and variance σ_{res}^2 .

In G3, the realized fitness of an individual k , y_{ijk} , from population i placed in habitat j is simulated as follows:

$$y_{ijk} = \text{genetic}_{ij} + \epsilon_{ijkl} \quad (2)$$

where all terms are as defined above.

For the simulations, we consider 3 populations, 3 habitats, and 10 individuals assayed for each population x habitat combination ($N=3$ and $n=10$) and the environmental variance was set to 0.5 ($\sigma_{\text{res}}^2 = 0.5$). To simulate both genetic and non-genetic effects on patterns of local adaptation, the variances among genetic and among non-genetics effects were set to 1 ($\sigma_{\text{genetic}}^2 = 1$, $\sigma_{\text{non-genetic}}^2 =$

1), the genetic and non-genetic covariances of genetics effects across environments were set to -0.1 (*i.e.*, $\rho_{genetic} = -0.1$ and $\rho_{non-genetic} = -0.1$). To estimate the false positive rate for the tests on both genetic and non-genetic effects, we used the same parameters except for the genetic and non-genetic covariance which were set to zero (*i.e.*, $\rho_{genetic} = \rho_{non-genetic} = 0$). To estimate the false positive rate for the test on genetic effects, we used the same parameters except for the genetic covariance which was set to zero (*i.e.*, $\rho_{genetic} = 0$). To estimate the false positive rate for the test on non-genetic effects, we used the same parameters except for the non-genetic covariance which was set to zero (*i.e.*, $\rho_{non-genetic} = 0$). We simulated 1,000,000 datasets for each of these four situations.

First, we estimated the SA genetic using G3 data as the difference between the mean of the fitness of G3 individuals in sympatric population/habitat combinations and the mean of the fitness of G3 individuals in allopatric population/habitat combinations. We also estimated the SA non-genetic, as the difference between the mean of the fitnessmean of G1 individuals in sympatric population/habitat combinations and the mean of the fitness of G1 individuals in allopatric population/habitat combinations minus the genetic SA computed using the G3 data.

To estimate the power of the test based on $F_{non-genetic}$, we kept 2000 datasets for each value of $SA_{non-genetic}$ ranging from 0.3 to 2.7 (independently of the value of $SA_{genetic}$). We used the same approach for the test based on $F_{genetic}$ and kept 2000 datasets for each value of $SA_{genetic}$ ranging from 0.3 to 2.7 (independently of the value of $SA_{non-genetic}$). We tested for genetic and non-genetic effects using the statistical analyses described in the main text.

3. Results

We found that, for both genetic and non-genetic effects, statistical power increased linearly with the intensity of genetic and non-genetic local adaptation (*i.e.*, $SA_{non-genetic}$ and $SA_{genetic}$ respectively; Fig. A1). Hence, we found that the $F_{non-genetic}$ and $F_{genetic}$ performed well in a balanced experimental setup with 3 populations and 3 habitats.

The false positive rate for the test on genetic effects was 0.030. The false positive rate for the test on non-genetic effects was 0.025. The false positive rate for the tests on both genetic and non-genetic effects was 0.030 and 0.025 for the detection of non-genetic and genetic effects.

4. Conclusion

From the power analysis results given above, we conclude that the $F_{genetic}$ and $F_{non-genetic}$ tests proposed here can be used to test the relative importance of genetic and non-genetic effects on local adaptation pattern in natural populations, at least in balanced experimental designs. Further developments using ANOVA models instead of linear mixed effects models will be required for the analysis of unbalanced reciprocal transplant designs.

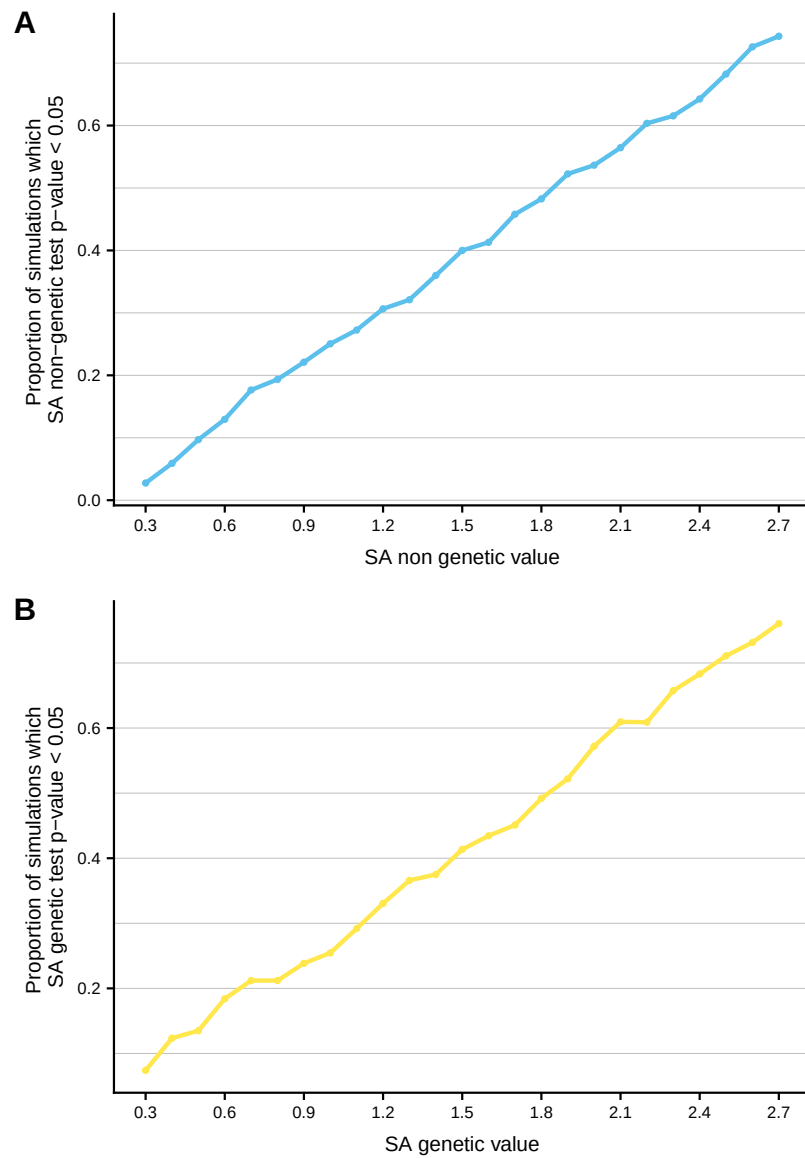


Figure A1 – Statistical power of the tests based on (A) $F_{non-genetic}$ and (B) $F_{genetic}$ as a function of the $SA_{non-genetic}$ and $SA_{genetic}$ respectively. We used 2000 simulated datasets for each value of $SA_{non-genetic}$ or $SA_{genetic}$ (see text for details).

Supplementary tables

Table S1 – Key information about the 25 *D. suzukii* populations collected in the wild that were subsequently analyzed in the laboratory. The host fruit is the fruit species from which flies emerged in the lab and were collected for experimental assays. The population name is the code name used for each population during our experiments. The city is the name of the most neighboring French city with respect to the sample site. The coordinates GPS is the exact location where fruits were collected. The sampling date using a mm/dd/yyyy format is the date where fruits were sampled.

Fruit population	Name population	City	GPS Coordinates	Sampling date
Cherry	Cherry50	Montpellier	43.626598, 3.863535	5/14/2018
Cherry	Cherry51	Avignon	43.956177, 4.838228	5/23/2018
Cherry	Cherry52	Saint-Quentin-la-Poterie	44.053988, 4.433953	5/28/2018
Cherry	Cherry3	Ceret	42.503621, 2.747655	6/1/2018
Cherry	Cherry6	Le Boulou	42.521786, 2.842217	6/1/2018
Cherry	Cherry7	Ceret	42.498589, 2.752859	6/1/2018
Cherry	Cherry47	Saint-Clement-de-Riviere	43.703934, 3.855531	6/6/2018
Cherry	Cherry103	Bedarieux	43.602079, 3.129426	6/22/2018
Cherry	Cherry104	Taussac-la-Billièrè	43.622699, 3.090652	6/22/2018
Strawberry	Strawberry53	Beaucaire	43.784667, 4.544464	6/8/2018
Strawberry	Strawberry44	Candillargues	43.628055, 4.057500	6/14/2018
Strawberry	Strawberry42	Avignon	43.926049, 4.840473	7/12/2018
Blackberry	Blackberry32	Maugio	43.609988, 3.994697	8/28/2018
Blackberry	Blackberry33	Saint-Clement-de-Riviere	43.693692, 3.838453	8/29/2018
Blackberry	Blackberry34	Montpellier	43.647906, 3.880657	8/29/2018
Blackberry	Blackberry31	Avignon	43.913557, 5.077187	9/3/2018
Blackberry	Blackberry35	Corneilhan	43.401430, 3.201040	9/4/2018
Blackberry	Blackberry36	Ouveillan	43.288458, 2.958087	9/4/2018
Blackberry	Blackberry37	Laroque-des-Albères	42.530609, 2.932136	9/6/2018
Blackberry	Blackberry38	Ceret	42.503268, 2.747621	9/6/2018
Blackberry	Blackberry39	Le Soler	42.669927, 2.788251	9/6/2018
Blackberry	Blackberry40	Montferrier-sur-lez	43.668816, 3.867852	9/8/2018
Blackberry	Blackberry43	Saint-Gely-du-Fesc	43.669139, 3.839824	9/11/2018
Blackberry	Blackberry45	Uzes	43.953888, 4.381957	9/12/2018
Blackberry	Blackberry44	La Boissiere	43.667453, 3.660270	9/13/2018

Supplementary figures

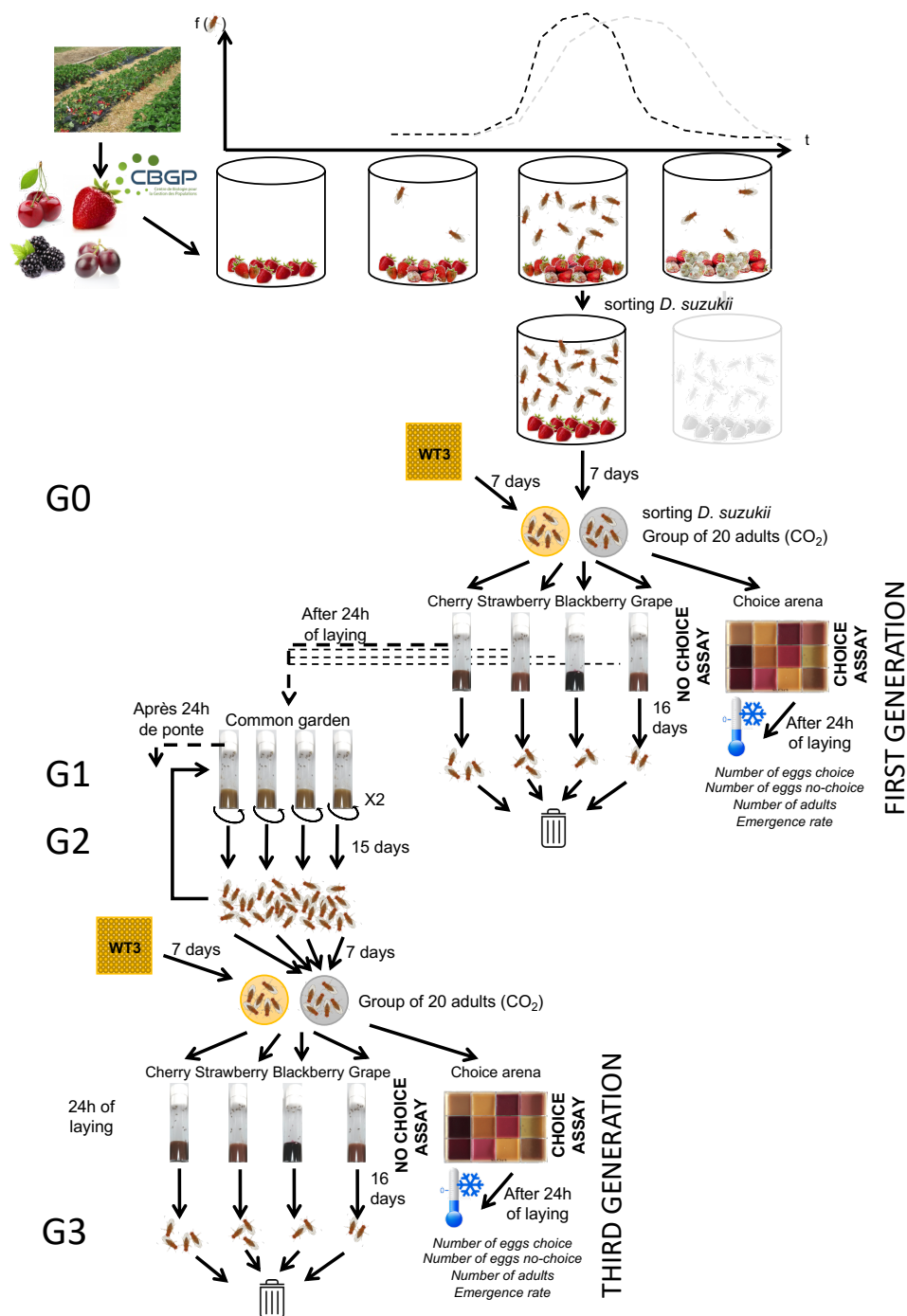


Figure S1 – Schematic representation of the experimental design. Field-collected fruits of each population were brought back to the “CBGP” (laboratory). This experimental setup was used for each of the 25 populations, including 9, 3, and 13 populations from cherry, strawberry, and blackberry respectively, and none from grape. Control inbred *D. suzukii* line, « WT3 » (represented by « yellow » color), was also assayed to test for potential temporal variability in experimental conditions.

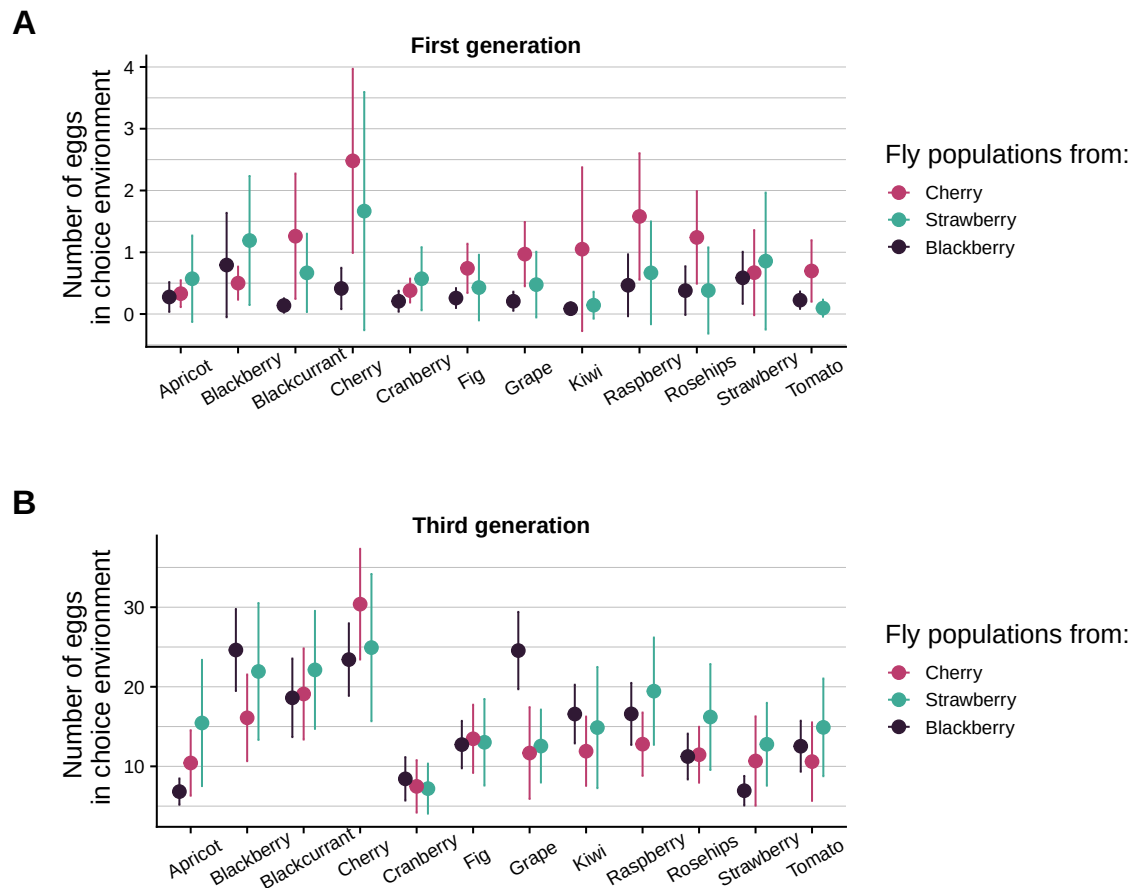


Figure S2 – Oviposition preference by fruit media for the fly populations from different host fruits, measured at generations G1 (A) and G3 (B). The dots represent the mean value with 95% CI error-bars for each population. These values were estimated from three fly populations from strawberry, nine from cherry and 13 from blackberry.

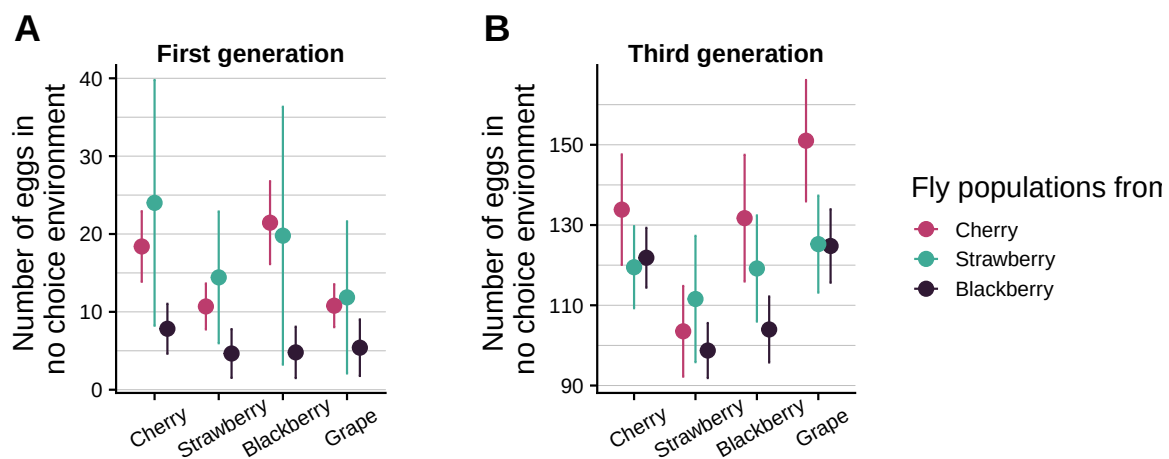


Figure S3 – Oviposition stimulation by fruit media for the *D. suzukii* populations from different host fruits, measured at generations G1 (A) and G3 (B). The dots represent the mean value with 95% CI error-bars for each population. These values were estimated from three fly populations from strawberry, nine from cherry and 13 from blackberry.

Discussion et perspectives

Discussion et perspectives - Table des matières

1.	Caractères candidats	196
1.1	Identification du gène <i>cpo</i> : vers une preuve de concept de l'approche d'écologie inversée	197
1.2	Limites de l'approche d'écologie inversée	199
2.	Dynamique de l'adaptation locale à la plante hôte	199
2.1	Une adaptation plus rapide observée pour les populations naturelles que pour les populations expérimentales	200
2.2	Mécanismes impliqués dans la rapidité de l'adaptation locale <i>in natura</i>	201
2.3	Réserves sur la généralisation des résultats	204
2.4	Architecture génétique de l'adaptation à la plante hôte	206
3.	Gestion des ravageurs	207
4.	Implication de l'adaptation à la plante hôte	209
4.1	De l'absence apparente de détection de gènes liés à l'adaptation à la plante hôte	209
4.2	Phénotype généraliste : cause ou conséquence de l'invasion?	210
5.	Conclusion	211

Le succès des invasions biologiques est déterminé par des changements démographiques, écologiques ou évolutifs affectant les populations envahissantes, et/ou par des changements environnementaux (ex. : Facon et al., 2006). Au cours des dernières décennies, les études sur les populations envahissantes ont révélé un certain nombre de caractères phénotypiques potentiellement impliqués dans le succès invasif (ex. : Williams et al., 2016; Ochocki and Miller, 2017; Colautti and Barrett, 2013; Cox, 2004; Wagner et al., 2017; Lee, 2002; Facon et al., 2011; Ellstrand and Schierenbeck, 2000; Colautti and Lau, 2015; Bock et al., 2015). Au cours de cette thèse, j'ai tout d'abord tenté de caractériser les bases génomiques des processus adaptatifs associés au succès invasif de l'espèce *D. suzukii*, sur une échelle mondiale. Pour cela, j'ai réalisé des analyses d'associations entre la différenciation génétique de 22 populations représentatives de la diversité génétique mondiale actuelle de l'espèce dans son aire native et son aire envahie, et le statut invasif ou natif de chacune d'entre elle. La méthode d'analyse utilisée, nouvellement développée, consistait à contraster des fréquences alléliques corrigées (pour tenir compte de la structure de covariance induite par l'histoire des populations) entre les populations natives et envahissantes. Ces analyses ont permis de détecter des changements de fréquences alléliques à différentes positions du génome, différenciant les populations des aires envahissantes et natives. Un des résultats marquants de cette étude est la très forte différenciation de trois variants proches (100 pb) au sein de l'intron 3 du gène couch potato (*cpo*), observée indépendamment, dans les aires américaine et européenne envahies indépendamment (voir **manuscrit A**).

Une partie importante de ma thèse s'est focalisée sur un caractère d'intérêt écologique et agronomique majeur, susceptible d'évoluer au cours de l'invasion : l'utilisation de la plante hôte. *Drosophila suzukii* est en effet considérée comme un ravageur des cultures majeur dans son aire envahie, ce qui n'est pas le cas dans son aire native (Marc Kenis, communication personnelle). En accord avec son statut de généraliste, ce ravageur cause des dégâts sur un grand nombre de cultures. Une utilisation différentielle des plantes hôtes pourrait donc expliquer, au moins partiellement, son succès invasif mais aussi son statut de peste agronomique dans son aire envahie, qui n'est pourtant pas avéré dans l'aire native. Au cours de cette thèse, j'ai cherché à savoir si une espèce très largement perçue comme généraliste (comme c'est le cas pour *D. suzukii*) peut se spécialiser dans deux contextes évolutifs distincts : (i) en conditions expérimentales, lorsque l'environnement est homogène et contrôlé; et (ii) en conditions naturelles, lorsque l'environnement est hétérogène (avec un grain intermédiaire).

Du fait des problèmes agronomiques posés par *D. suzukii* dans son aire envahie et pour des raisons de facilité d'accès au matériel biologique, j'ai tout d'abord étudié l'utilisation de la plante hôte par une population envahissante de la région de Montpellier (France). Ainsi, j'ai mesuré différents caractères liés à la préférence de pontes des femelles et la performance des larves dans 12 milieux produits à partir de purées de fruits différentes (*i.e.*, 12 environnements différents). Un des résultats marquants de cette étude est la forte préférence de ponte des femelles pour des fruits riches en phosphore ainsi que la forte préférence de ponte pour le cassis, fruit sur lequel les performances larvaires dans ce contexte expérimental étaient paradoxalement faibles. Plus généralement, j'ai mis en évidence un effet important de la plante hôte, et plus précisément de

la composition chimique des purées de fruits, sur ces caractères. (voir **manuscrit B**).

Par la suite, je me suis intéressée à l'évolution de la spécialisation à la plante hôte dans cette population généraliste de *D. suzukii* dans son aire envahie. Pour ce faire, j'ai fait évoluer en laboratoire des populations sur différents fruits pendant 26 générations dans des environnements homogènes (un seul fruit par population). Par le biais d'expériences de transplantations réciproques, j'ai ensuite testé la valeur sélective de ces populations expérimentales sur chacun des environnements utilisés lors de l'évolution expérimentale. J'ai pu montrer qu'il existe des compromis de valeur sélective entre environnements après 26 générations d'évolution expérimentale. Ces résultats démontrent que la spécialisation écologique peut évoluer dans une population considérée comme généraliste lorsque l'environnement (ici les fruits hôtes) est homogène dans le temps et dans l'espace (voir **manuscrit C**).

Enfin, je me suis directement intéressée à la spécialisation (au moins transitoire) à la plante hôte de populations naturelles de *D. suzukii*, c'est-à-dire dans un contexte d'environnement hétérogène dans le temps et dans l'espace. Pour ce faire, j'ai collecté des populations de *D. suzukii* via l'échantillonnage de différents fruits *in natura*, puis réalisé avec ces dernières des expériences de transplantations réciproques en conditions contrôlées. J'ai ainsi pu mettre en évidence des patrons d'adaptation locale de *D. suzukii* à la plante hôte (voir **manuscrit D**). *In natura*, le niveau d'hétérogénéité spatiale et temporelle de l'utilisation des plantes hôtes par cette espèce peut être considéré comme intermédiaire. En effet, le nombre de générations passées en continu sur chaque type de plante hôte est évalué à quatre au maximum, ce qui est étonnamment faible mais pourtant suffisant pour détecter un patron d'adaptation locale.

Dans cette discussion générale, je présenterai tout d'abord les perspectives et les limites de l'identification de caractères impliqués dans le succès de l'invasion de *D. suzukii*. Dans un second temps, je me concentrerai sur les résultats obtenus dans le contexte de la spécialisation à la plante hôte. Je discuterai en particulier de la vitesse du processus d'adaptation à la plante hôte, des limites posées par l'interprétation de ces résultats et des perspectives associées à ces résultats. Dans un troisième temps, je présenterai les apports de cette thèse en termes de gestion de ravageurs. Enfin, je repositionnerai la spécialisation écologique dans le contexte des invasions biologiques, avant de conclure sur les apports de cette thèse.

1. Caractères candidats associés au succès d'une invasion biologique

Les difficultés d'identification des caractères impliqués dans le succès d'une invasion ont été présentées dans l'introduction. Durant cette thèse, j'ai pu mettre en application une méthode développée au sein du laboratoire d'accueil (l'analyse des contrastes) et qui peut être considérée comme générique pour identifier des caractères d'intérêts potentiellement impliqués dans le succès d'invasion.

1.1 Identification du gène *cpo* : vers une preuve de concept de l'approche d'écologie inversée

Le gène *cpo*, gène candidat identifié par l'analyse d'association réalisée au cours de cette thèse, est connu pour réguler l'induction de la diapause chez *D. melanogaster* (Schmidt et al., 2008)) et d'autres insectes (y compris chez *D. sukuzii* comme l'indiquent des données transcriptomiques; Toxopeus et al., 2016). Des mutations du gène *cpo* impactent également le temps de développement et les taux de survie des larves et des adultes chez *D. melanogaster* (ex. : Schmidt et al., 2008). Ces caractéristiques fonctionnelles pourraient être déterminantes pour expliquer, au moins en partie, le succès invasif à l'échelle mondiale de *D. sukuzii* (voir la discussion du manuscrit A).

Selon notre analyse, le variant intronique identifié dans *cpo*, correspondant vraisemblablement à une double mutation (*i.e.*, aboutissant à deux SNPs consécutifs en déséquilibre de liaison complet), est très significativement associé au succès invasif de *D. sukuzii*. Par la suite, il sera important de vérifier chez cette espèce si ce variant affecte l'induction de la diapause et des autres caractères qui y sont généralement corrélés chez l'espèce sœur *D. melanogaster* (ex. : temps de développement, taux de survie larvaire et adultes). Une façon d'aborder cette question serait de réaliser une étude de ségrégation en bloc (BSA pour *bulked segregation analysis*) sur une population de laboratoire constituée par un croisement F2 entre deux populations (ou lignées) chacune fixée pour un des deux variants alléliques (Fig. 1).

Du fait des caractéristiques favorables du modèle biologique *D. sukuzii*, il est également possible d'envisager une validation plus directe de l'effet du gène et même de la mutation sur les caractères candidats pour expliquer le succès invasif. Citons par exemple l'utilisation de techniques moléculaires basées sur l'interférence à ARN (*RNA-silencing*; *e.g.*, Janitz et al., 2006) qui permettent d'inactiver (temporairement) un gène pour évaluer son effet. Une limite pratique de cette approche est qu'il faut bien définir le stade de vie à cibler. De plus, elle ne permet, au mieux, que d'obtenir une réponse seulement globale sur la fonction du gène et non sur l'effet spécifique de la mutation. Pour tester spécifiquement l'effet d'une mutation, il est possible, en théorie, d'avoir recours à des approches d'édition du génome (ex. : via le système CRISPR / Cas9; Bassett et al., 2013; Karageorgi et al., 2017), mais cette méthodologie demande un fort investissement qui ne peut se justifier que si les expériences de BSA confirment l'effet de la mutation sur les caractères candidats.

De manière plus globale, le lien entre ces caractères candidats potentiellement affectés par la variation au gène *cpo* et le succès invasif demandera des études spécifiques. Il serait notamment intéressant de regarder si l'induction de la diapause et l'expression des autres caractères associés ont évolué au cours de l'invasion; par exemple via des analyses en jardin commun de ces caractères sur un ensemble de populations natives et envahissantes. Ces perspectives d'études sont susceptibles de fournir des informations décisives pour mieux comprendre le lien entre la variation génétique, les caractères phénotypiques adaptatifs, les effets démographiques et le succès de l'invasion.

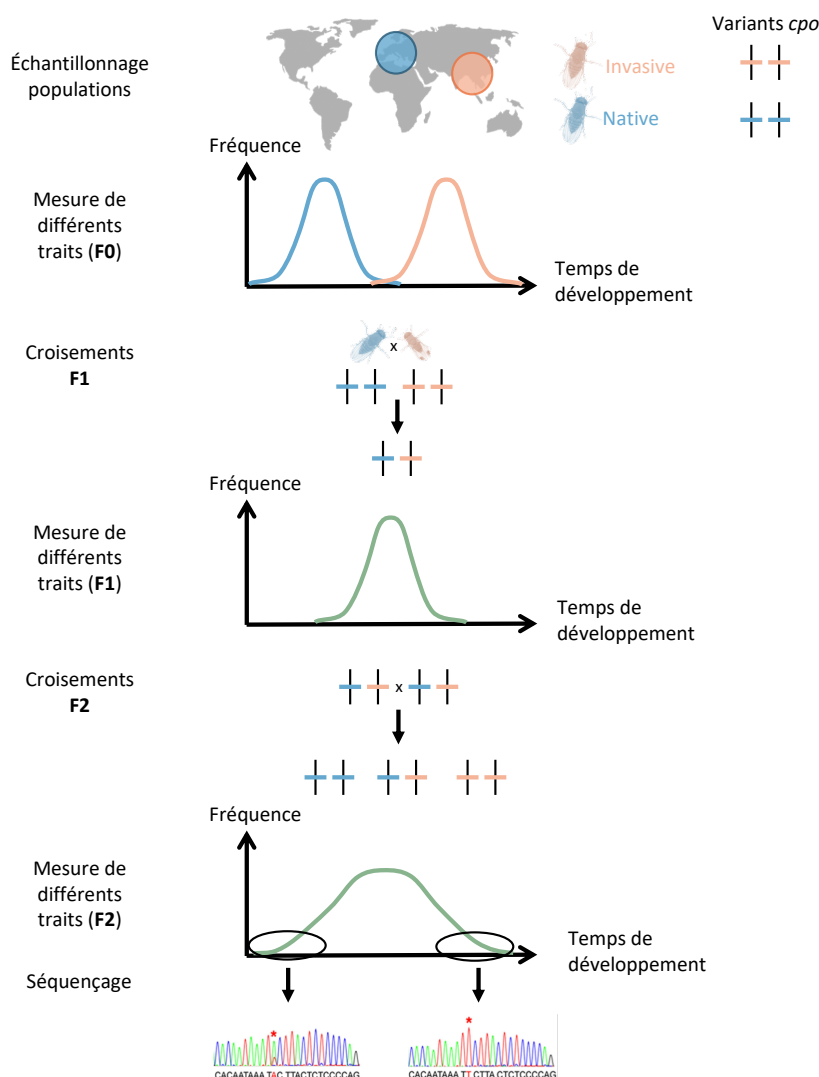


Figure 1 – Validation de l’effet de la variation génétique au gène *cpo* sur des caractères potentiellement liés au succès invasif. Les différents caractères mesurés peuvent être la diapause, le temps de développement, la survie larvaire ou adulte. Par souci de concision, je ne présente dans la figure que la démarche générale et les résultats attendus sur un seul caractère, à savoir le temps de développement. Dans un premier temps (F0), différents caractères sont mesurés sur une population (ou lignée) échantillonnée dans l’aire native et une population (ou lignée) échantillonnée dans l’aire envahie, celles-ci ayant, d’après notre étude, des fréquences alléliques très différentes pour le variant d’intérêt (*i.e.*, allèle dérivé fixé dans les populations envahissantes et en faible fréquence dans l’aire native). Sous notre hypothèse, nous nous attendons à des temps de diapause et de développement plus courts dans la population envahissante, ainsi que des taux de survie larvaire et adulte plus faibles, et une fécondité précoce plus importante dans la population envahissante. Les individus F1 issus du croisement entre ces deux populations devraient montrer un phénotype intermédiaire et une plus grande homogénéité. Afin de recréer de la variation inter-individuelle, une lignée F2 est produite (par croisement des individus F1). Pour chaque caractère d’intérêt, des groupes d’individus F2 présentant des phénotypes extrêmes (10% inférieurs et 90% supérieurs) sont constitués et séquencés (en pool). On s’attend ainsi à retrouver des différences de fréquences significatives entre les deux groupes au niveau des variants (en particulier celui identifié dans le gène *cpo*) qui contrôlent la variation des caractères considérés. Si ce dispositif maximise la puissance de détection pour le variant du gène *cpo*, du fait de fréquences équilibrées dans la F1, il permet également de détecter potentiellement d’autres régions du génome impliquées dans les variations phénotypiques étudiées.

1.2 Limites de l'approche d'écologie inversée

L'application de l'approche d'écologie inversée pour identifier des caractères sous-tendant le succès invasif, permet d'avoir une vision globale sur les caractères potentiellement impliqués sans nécessiter d'avoir des *a priori* candidats. Elle a également l'avantage de pouvoir être transposée à toute autre espèce envahissante. Par exemple, pour les espèces où expérimentalement aucun caractère étudié n'est différent entre les populations natives et envahissantes, cette approche permettrait de *i)* confirmer qu'aucun changement évolutif n'a eu lieu chez cette espèce ou *ii)* détecter des caractères qui n'ont pas été testés expérimentalement, mais montrant des changements induits au cours de l'invasion.

Cependant, plusieurs limites existent à cette approche, avant de pouvoir l'utiliser de manière générique à d'autres espèces. Tout d'abord, il est nécessaire de disposer d'une annotation fonctionnelle complète et fiable des génomes de l'espèce étudiée, ou à défaut chez une espèce apparentée, ce qui était notre cas avec *D. melanogaster*. Bien que de plus en plus de génomes soient séquencés, y compris chez les insectes (ex. : projet i5k, Robinson et al., 2011), l'annotation fine des génomes ne reste disponible que pour un très petit nombre d'espèces modèles (ex. : *C. elegans*, *A. thaliana*, *D. melanogaster* ou encore à un degré cependant moins précis *M. musculus* et *H. sapiens*). De plus, la manipulation des génomes pour valider spécifiquement la fonction de certains gènes (ex. : par RNAi ou édition ciblée du génome) n'est envisageable que dans un petit nombre d'espèces. En effet, et plus généralement, les conditions et même les possibilités d'élevage de l'espèce considérée limitent souvent grandement la faisabilité des manipulations expérimentales (ex. : la processionnaire du pin, *Thaumetopoea pityocampa*, insecte urticant, Lamy, 1990, mais voir Stastny et al., 2006 pour un exemple).

Une dernière limite importante à mentionner, plus spécifique à notre approche sur l'étude des phénomènes adaptatifs dans le cas d'une invasion biologique, est la nécessité d'avoir un échantillonnage représentatif de l'histoire de son invasion. Dans l'aire native, la taille des populations des espèces envahissantes est souvent faible, rendant difficile l'échantillonnage d'un nombre conséquent de populations natives. Seul un échantillonnage relativement dense, comme dans notre étude, peut apporter assez de puissance pour mettre en évidence des caractères différenciés. Il existe donc un compromis entre la puissance apportée par un échantillonnage fiable et l'intensité du signal pouvant être détecté.

2. Dynamique de l'adaptation locale à la plante hôte

Comme évoqué dans l'introduction, si les attendus théoriques sur l'adaptation locale à la plante hôte sont assez clairs, ceux sur l'évolution des populations en conditions naturelles dans un environnement hétérogène le sont beaucoup moins. Durant cette thèse, je me suis donc intéressée à mieux comprendre l'effet de l'hétérogénéité environnementale sur l'adaptation à la plante hôte de populations envahissantes de *D. suzukii* (i.e., populations récemment introduites potentiellement en déséquilibre évolutif).

2.1 Une adaptation plus rapide observée pour les populations naturelles que pour les populations expérimentales

Durant cette thèse, j'ai cherché à évaluer dans quelle mesure des populations expérimentales et naturelles étaient adaptées localement. Du fait de l'homogénéité des pressions de sélection durant l'évolution expérimentale, l'adaptation locale aux fruits était attendue comme plus rapide que dans les populations naturelles, où l'environnement est hétérogène. De manière contre-intuitive, dans les populations ayant évolué expérimentalement (en conditions contrôlées au laboratoire) sur le même fruit pendant cinq générations, aucun patron d'adaptation locale entre environnements (*i.e.*, fruits) n'a pu être détecté (voir étape de phénotypage « intermédiaire » de l'évolution expérimentale), alors que les populations naturelles ont révélé un patron d'adaptation locale après moins de cinq générations sur le même fruit (nombre de générations successives, estimées relativement à la disponibilité en hôte). Ainsi, le processus d'adaptation locale mis en évidence dans les deux cas est apparu comme plus lent en conditions expérimentales.

Même si les caractères étaient mesurés dans les mêmes conditions dans les deux études autorisant des comparaisons, plusieurs caractéristiques étaient différentes dans les deux contextes évolutifs étudiés. Avant tout, les tailles de populations étudiées étaient petites pour les populations expérimentales et grandes pour les naturelles, ce qui influence fortement la rapidité de la sélection comme précédemment évoqué (voir introduction ou discussion du manuscrit D). Parmi les autres facteurs, on peut aussi citer (*i*) les caractéristiques artificielles des milieux expérimentaux dans lesquels la sélection a lieu (purées de fruits standardisées contre fruits entiers en conditions naturelles), (*ii*) les pressions de sélection sur la préférence d'oviposition (absentes en évolution expérimentale et présents en conditions naturelles), (*iii*) la présence de pressions abiotiques et biotiques additionnelles dans des conditions naturelles.

Par souci de concision, je me focaliserai ici sur le rôle potentiel des micro-organismes dans l'adaptation de *D. sukuzii* à la plante-hôte. Les milieux utilisés en évolution expérimentale sont en effet produits à base de purées de fruits congelées et d'autres ingrédients stérilisés par auto-clavage. Ces milieux sont ainsi quasiment dépourvus de micro-organismes. Or, des micro-organismes variés sont présents à la surface des fruits et leurs effets sur la performance et la préférence de *D. sukuzii* pourraient expliquer, au moins en partie, une évolution plus rapide *in natura*. Plusieurs études montrent que certains micro-organismes affectent la manière dont plusieurs insectes herbivores ou saprophages utilisent leur plante hôte (Moran, 2007; Jaenike, 1990; Hansen and Moran, 2014; et voir Janson et al., 2008 pour une synthèse sur le rôle du microbiote dans l'utilisation de nouvelles plantes hôtes par les insectes phytophages). Il est par ailleurs connu que le microbiote influence les préférences en matière de ponte et la performance chez plusieurs espèces de drosophiles (Anagnostou et al., 2010; Vacek et al., 1985; Wong et al., 2017; Yuval, 2017; Walsh et al., 2017), y compris *D. sukuzii* (Lewis and Hamby, 2019; Bellutti et al., 2018). De nombreuses espèces d'insectes phytophages possèdent des bactéries qu'elles peuvent transmettre avec une grande fidélité à leur descendance (Buchner, 1965). Un microbiote spécifique à chaque fruit hôte pourrait ainsi être transmis de génération en génération chez *D. sukuzii*, comme observé sur milieu artificiel pour *D. melanogaster* (Farine et al., 2017). Ces

microbiotes pourraient être perçus comme une innovation génétique similaire à un transfert de gène (Moran, 2007) et permettre l'adaptation à leur hôte (Jaenike et al., 2010; Hauffe and Barelli, 2019).

Pour la suite, il serait donc pertinent de tester chez *D. suzukii* l'influence des micro-organismes dans le processus dynamique d'adaptation locale à la plante hôte. Pour ce faire, il serait judicieux d'identifier les communautés bactérienne et fongique présentes dans chaque population de *D. suzukii* échantillonnée par des approches de metabarcoding. Cette première approche permettrait de savoir si la communauté de micro-organismes est partagée entre populations issues d'un même fruit et différente entre populations provenant de différents fruits (objectif 1 de la Fig. 2). Il serait également pertinent de tester chez *D. suzukii* l'effet des micro-organismes sur les phénotypes associés à l'utilisation à la plante hôte. Il s'agirait dans ce cas de comparer l'utilisation de la plante hôte par des individus issus directement de populations naturelles de *D. suzukii* et par des individus issus des mêmes populations mais exposés à des traitements antibiotiques afin de modifier voire d'éliminer leur communauté microbienne (objectif 2 de la Fig. 2). Une fois ces deux objectifs réalisés, l'influence des micro-organismes sur l'évolution de l'adaptation locale dans les populations naturelles pourrait être testée par le biais d'expériences d'inoculations réciproques. Il s'agirait alors de comparer les patrons d'adaptation locale d'une population provenant d'un fruit donné et associée à une communauté microbienne donnée, avec la même population inoculée avec des communautés microbiennes provenant d'un autre fruit d'origine (objectif 3 de la Fig. 2). L'ensemble de ces expériences est susceptible de fournir des informations décisives pour mieux comprendre le rôle des microbiotes dans l'évolution des organismes et leur rôle dans les processus adaptatifs.

2.2 Mécanismes impliqués dans la rapidité de l'adaptation locale *in natura*

L'adaptation locale à la plante est un processus rapide, particulièrement dans les populations naturelles. La préférence de ponte et la performance des larves semblent évoluer rapidement en réponse aux pressions de sélection liées à la phénologie des plantes. Cette sélection fluctuante peut également influencer l'évolution de certains caractères, participant directement ou indirectement à l'adaptation locale. En particulier, la fluctuation des pressions de sélection peut influencer l'évolution de la plasticité phénotypique, la dispersion et la préférence sexuelle, qui peuvent favoriser et/ou compromettre l'adaptation locale des populations dans un environnement hétérogène.

Durant ma thèse, j'ai étudié plus particulièrement la plasticité phénotypique. Un attendu fort est que chaque changement d'hôte favorise un niveau de plasticité phénotypique élevé. La plasticité phénotypique peut, pendant la ou les première(s) génération(s) de *D. suzukii* sur cet hôte, permettre aux populations de persister dans un nouvel environnement avant que la différenciation génétique adaptative ne se mette en place (Lande, 2015). Après quelques générations, lorsqu'une différenciation génétique permet à elle seule une adaptation locale, alors la plasticité, due à son coût, est contre-sélectionnée (Kelly, 2019; Lande, 2009; Dewitt et al., 1998).

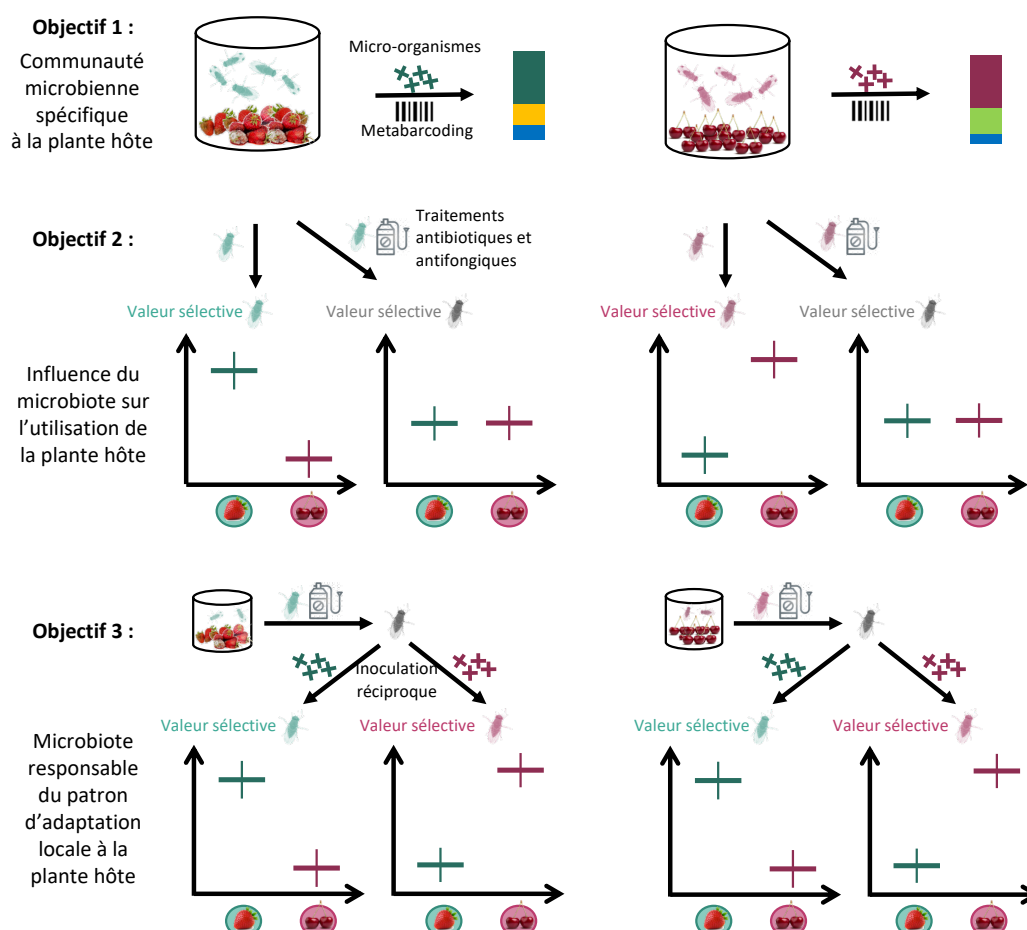


Figure 2 – Expériences potentielles permettant de tester l'influence des micro-organismes sur le processus d'adaptation locale aux fruits-hôtes. Les résultats présentés dans la figure sont ceux attendus sous l'hypothèse que les processus d'adaptation locale sont, au moins en partie, induits par les micro-organismes. Les individus adaptés localement au fruit dont ils ont émergé sont représentés en couleur (vert pour la fraise et violet pour la cerise). Le premier objectif (objectif 1) vise à identifier la communauté microbienne spécifique de chaque population. Les micro-organismes sont représentés ici par des croix (en vert pour la communauté spécifique à la fraise et en violet pour la communauté spécifique à la cerise). Le second objectif (objectif 2) vise à tester le patron d'adaptation locale en utilisant une expérience de transplantation réciproque. Dans cette expérience, les individus dépourvus de ces microorganismes à la suite de traitements antibiotiques et antifongiques (représentés par l'icône pulvérisateur) sont représentés en noir. Le troisième objectif (objectif 3) vise à tester les patrons d'adaptation locale par le biais d'une expérience de transplantation réciproque portant sur des mouches provenant de fraise et de cerise, les communautés microbiennes spécifiques à chacun de ces deux fruits étant inoculées de manière indépendante.

2. DYNAMIQUE DE L'ADAPTATION LOCALE À LA PLANTE HÔTE

Le manque de puissance des données obtenues dans notre étude sur la génération émergeant directement de fruits échantillonnés sur le terrain (G0) ne nous permet pas de conclure sur ce point. Un certain nombre de résultats suggère néanmoins l'existence d'effets non génétiques sur l'adaptation à la plante hôte chez *D. suzukii*. Il serait intéressant de mesurer le degré de plasticité des populations naturelles au cours de la saison afin de tester si celui-ci s'avère plus fort en début qu'en fin de saison sur plusieurs fruits-hôtes.

Les fluctuations saisonnières des pressions de sélection impactent également la dispersion et la préférence sexuelle, deux processus capables de renforcer ou compromettre l'adaptation locale. Comme présenté en introduction, la dispersion est susceptible de générer des flux de gènes entre populations localement adaptées, et donc de favoriser ou de compromettre l'adaptation locale (Ronce, 2007; Kawecki and Ebert, 2004; Kisdi, 2002; Lenormand, 2002). Dans notre cas, si après quelques générations sur un fruit donné, la population y est adaptée, alors la dispersion devrait être contre-sélectionnée du fait des coûts associés (Bonte et al., 2012; Roff, 1977). En effet, un fort taux de dispersion entraînerait à la fois la perte d'individus adaptés et l'apport d'individus non ou mal adaptés. Cependant, lorsque la saison d'un fruit est terminée (*i.e.*, lorsque la ressource n'est plus disponible localement), la dispersion favoriserait la colonisation de nouveaux environnements et devrait donc être sélectionnée positivement (Wiens, 1976; Kitching, 1971; Berg et al., 2010). Il serait donc pertinent de savoir si la dispersion fluctue au cours du temps dans ce contexte environnemental. Pour estimer le taux de dispersion, et plus directement le flux de gènes entre populations, deux types d'approches existent : les méthodes directes et les méthodes indirectes (Nathan, 2001). Les méthodes démographiques (directes) permettraient de suivre à une échelle fine la dispersion des mouches via des méthodes Capture-Marquage-Recapture (CMR; Amstrup et al., 2005). Les méthodes génétiques (indirectes) donnent accès aux paramètres démographiques locaux, mais sont moins résolutive pour détecter des variations sur des petites échelles de temps (Guillot et al., 2009; Bradburd and Ralph, 2016). Même si les approches par CMR ne permettent pas de dissocier les mouvements des individus des réels flux de gènes liés à des événements de reproduction, elles ont l'avantage de suivre finement l'évolution de la dispersion dans un environnement hétérogène. Ce type d'approche a déjà été appliqué chez *D. suzukii* (Tait et al., 2018). Une récente étude a notamment mis en évidence une différence des distances de dispersion de cette espèce entre l'automne et le printemps (Vacas et al., 2019). Ce résultat conforte l'hypothèse évoquée ici, selon laquelle la dispersion serait soumise à des pressions de sélection fluctuantes au cours de l'année. Appliquer cette méthode à une échelle fine (phénologie des fruits plutôt que saison de l'année), permettrait d'avoir un aperçu de l'évolution de la dispersion au cours du temps en relation avec les successions saisonnières des différents fruits.

Les préférences sexuelles peuvent influencer l'adaptation locale en entraînant un appariement des femelles adaptées à une plante hôte donnée, avec des mâles spécialisés sur cette même plante hôte. Par exemple, chez *Tetranychus urticae*, les écotypes spécialisés sur la tomate ont une préférence pour des partenaires sexuels spécialisés sur la tomate, quelle que soit la plante sur laquelle ils sont placés (Gotoh et al., 1993). De tels patrons d'« *assortative mating* » (*i.e.*,

tendance des individus de phénotypes similaires à s'accoupler ensemble plus souvent qu'attendu par hasard, Crespi, 1989) sont largement retrouvés dans les populations spécialisées (ex. : Malausa et al., 2005). Cette préférence hôte-spécifique favoriserait donc l'adaptation locale durant la saison d'un hôte. Cependant, cette préférence deviendrait maladaptative à la fin de la saison, lorsque la fréquence des individus adaptés à cet hôte est importante dans la population mais que l'hôte en question n'est plus disponible. A ce moment-là, la préférence pour un partenaire sexuel adapté au même hôte que soi serait alors contre-sélectionnée par sélection naturelle. Une évolution de la préférence pour un partenaire sexuel liée à la plante hôte a déjà été mise en évidence chez les drosophiles. Par exemple, l'adaptation à différents milieux d'élevage (plantes hôtes), a entraîné la divergence du choix des partenaires sexuels des femelles *D. serrata* en fonction de leur milieu d'évolution, après 29 générations d'évolution expérimentale (Rundle et al., 2005). Cependant, une telle évolution des préférences sexuelles n'a, à ma connaissance, jamais été mise en évidence dans un contexte temporel dynamique aussi rapide que notre cas d'étude (*i.e.*, changements de préférences sexuelles en réponse à une sélection fluctuante liés à la phénologie *in natura* des plantes hôtes). Néanmoins, les préférences de partenaires sexuels peuvent se baser sur des signaux conditions-dépendants, qui sont corrélés à la valeur sélective du mâle (ex. : chez les diptères *Cyrtodiopsis dalmanni*, Cotton et al., 2004). Dans ce contexte, les mâles adaptés localement développent des signaux condition-dépendants plus attirants pour les femelles et ont ainsi plus de chances de se reproduire : la sélection sexuelle favoriserait donc ainsi l'évolution de l'adaptation locale. Les fluctuations saisonnières de plantes hôtes pourraient typiquement favoriser l'évolution de ce type de préférence sexuelle. Contrairement au premier mécanisme proposé (évolution/changement des préférences des femelles au cours de la saison d'un fruit), avec ce processus (préférence sur des signaux conditions-dépendants), ni la préférence sexuelle ni le signal sexuel n'ont besoin d'évoluer : les signaux reflètent directement la composition adaptative, ou non, de la population.

Tous les mécanismes évoqués précédemment – plasticité phénotypique, dispersion, préférence sexuelle - pourraient interagir conjointement pour influencer l'évolution de l'adaptation locale. Il est difficile de tenir compte de tous ces facteurs et de leurs interactions dans une étude empirique. Néanmoins, étudier théoriquement la co-évolution de ces différents mécanismes via des méthodes de modélisations pourrait permettre de mieux comprendre leur implication sur l'adaptation locale dans un environnement hétérogène dans le temps et dans l'espace.

2.3 Réserves sur la généralisation des résultats

De par sa large gamme d'hôtes, *D. suzukii* est considérée dans la littérature comme une espèce généraliste. Pourtant, les travaux de cette thèse ont démontré les capacités d'adaptation locale de cette espèce, que ce soit dans des populations expérimentales ou *in natura*. Les autres espèces considérées dans la littérature comme généralistes pourraient donc être constituées en réalité d'un ensemble de populations de spécialistes « légers et transitoires ».

En ce qui concerne *D. suzukii*, cette conclusion ne repose cependant, que sur l'étude de l'adaptation à trois fruits (cerise, fraise et mûre) considérés qui plus est, comme des hôtes de bonne qualité pour *D. suzukii* (Burrack et al., 2013; Walsh et al., 2011; Lee et al., 2011c). Étant

donnée l'importante taille des populations durant la saison de ces trois fruits étudiés, la réponse de cette espèce aux pressions de sélection induites par les fruits, devrait donc être élevée par rapport à celles observées sur d'autres fruits présents à d'autres saisons de l'année où les tailles de populations sont plus faibles.

Il est également important de rappeler que l'évolution expérimentale réalisée au cours de cette thèse a montré que l'adaptation locale s'avérerait impossible sur certains fruits (tout au moins dans les conditions expérimentales choisies), alors que beaucoup de ces fruits sont utilisés par *D. suzukii* en conditions naturelles. Pour expliquer ce paradoxe apparent, il faut repositionner l'ensemble des résultats obtenus dans les populations expérimentales, mais également dans les populations naturelles, à l'échelle de la méta-population. La méta-population de *D. suzukii* peut être assimilée à une dynamique du type « puits- sources » (Holt, 1996; Kawecki, 1995). Les fruits pour lesquels l'adaptation était possible, pourraient être considérés comme des sources (*i.e.*, permettant une croissance positive de la population, Pulliam 1988). À l'inverse les autres correspondraient à des « puits » (*i.e.*, entraînant une croissance négative de la population, Pulliam, 1988). Ces « puits » seraient des fruits transitoires permettant la survie de la population jusqu'à la saison d'un fruit source. Dans la mesure où les puits et les sources interagissent entre eux, il semble donc nécessaire de considérer l'ensemble des fruits avant de conclure sur l'adaptation locale à la plante hôte (Gundersen et al., 2001). Par exemple, chez *T. urticae*, l'effet d'une dynamique puits-sources sur l'adaptation à la plante hôte a récemment été mis en évidence via une approche d'évolution expérimentale (Bisschop et al., 2019). En effet, l'adaptation à des hôtes pauvres (poivron), considérés comme des puits, n'était possible que lorsque les individus évoluaient dans un environnement hétérogène contenant des plantes hôtes sources (concombre).

Il est également important de souligner que l'assemblage dans le temps et dans l'espace des ressources disponibles dans le paysage influence la dynamique d'adaptation. En effet, les facteurs jouant un rôle clé sur la dynamique d'adaptation sont multiples. On peut citer *i)* le nombre de générations sur fruit (durée du processus de sélection, voir introduction); *ii)* la disponibilité d'autres ressources dans le voisinage (structure du paysage influençant les flux de gènes; Tack and Roslin, 2010); *iii)* l'enchaînement des fruits au cours de l'année, ceux-ci correspondant ou non à des nouveaux défis évolutifs (intensité de la sélection, voir introduction); ou encore *iv)* la quantité de fruits disponibles susceptibles d'influencer la taille des populations (Franzén and Nilsson, 2010).

Finalement, pour généraliser les résultats obtenus, il semble pertinent de caractériser de manière fine l'hétérogénéité de l'environnement dans lequel évoluent les populations de *D. suzukii*. Bien décrire le paysage dans le temps et l'espace, permettrait de mieux appréhender les trajectoires évolutives des populations de *D. suzukii* tout au long de l'année. En particulier, durant la période hivernale, aucun fruit d'intérêt agronomique utilisé par *D. suzukii* n'est cultivé, et l'on dispose de très peu d'informations sur où et comment les populations se maintiennent (Zerulla et al., 2015; Kenis et al., 2016; Wallingford et al., 2018). En savoir plus sur cette question, permettra de mieux anticiper l'écologie et l'évolution des populations en sortie d'hiver, une période pendant laquelle la taille des populations est encore petite et les méthodes de gestion plus efficaces (Panel et al., 2018).

2.4 Architecture génétique de l'adaptation à la plante hôte

Une perspective intéressante offerte par les approches de génomique des populations est l'identification à l'échelle du génome des variants génétiques associés à l'adaptation locale sur fruits, que nous avons mise en évidence phénotypiquement dans les populations expérimentales et les populations naturelles. Il s'agirait d'identifier les régions du génome dont la variabilité inter-populationnelle covarie avec les caractéristiques phénotypiques de ces populations, en utilisant comme covariable phénotypique le fruit sur lequel les populations ont évolué. Ces analyses pourraient être réalisées aussi bien sur les populations expérimentales que sur les populations naturelles phénotypées au cours de cette thèse. Notons qu'un complément d'échantillonnage sur fruit a déjà été réalisé dans d'autres sites géographiques en France (régions de Lyon et d'Amiens) et aux USA (Colorado, Wisconsin et Caroline du Nord) ainsi que sur d'autres fruits (principalement raisin et framboise) en plus de la fraise, la cerise et la mûre, dans le but d'augmenter la puissance des analyses d'association. L'annotation fonctionnelle des variants associés à la plante hôte trouvés sur les populations expérimentales et sur les populations naturelles permettrait de tester si les voies physiologiques impliquées dans la spécialisation sont identiques ou partiellement chevauchantes, et donc d'évaluer dans quelle mesure les processus adaptatifs mis en évidence dans les expériences d'évolution expérimentale sont transposables *in natura*.

Identifier les bases génétiques de l'adaptation à la plante hôte représente un grand intérêt, et ceci pour plusieurs raisons. Premièrement, connaître l'architecture génétique permettrait de mieux identifier les voies physiologiques mobilisées dans la spécialisation observée dans les populations *in natura* et, plus généralement, de mieux comprendre les modalités de l'interaction entre les insectes et leurs plantes hôtes (Simon et al., 2015). Par exemple, Dworkin and Jones (2009) ont ainsi mis en évidence une diminution de l'expression de gènes impliqués dans l'olfaction, la détoxification et le métabolisme chez *Drosophila sechellia*, une espèce de drosophile spécialiste des fruits produits par *Morinda citrifolia*, par rapport à son espèce sœur généraliste *D. simulans*. Deuxièmement, connaître l'architecture génétique des caractères impliqués dans la spécialisation permet de mieux prédire leur évolution (Via and Hawthorne, 2002; Forister et al., 2012). Par exemple, selon Forister et al. (2007) l'adaptation à de nouvelles plantes hôtes n'est pas attendue chez le coléoptère *Leptinotarsa decemlineata*, du fait de l'absence de corrélation génétique entre les caractères impliqués dans l'utilisation de la plante hôte. Troisièmement, l'architecture génétique de l'adaptation à la plante a largement été étudiée dans le contexte des races d'hôtes. Ces dernières correspondent à des populations génétiquement différenciées qui coexistent en sympatrie et utilisent des plantes hôtes différentes, bien que le flux de gènes entre elles ne soit pas totalement interrompu. D'un point de vue évolutif, les races d'hôtes peuvent s'inscrire au sein d'un continuum allant de populations non différenciées à des populations en cours de spéciation (Peccoud et al., 2009). Identifier les bases génétiques de cette différenciation permet donc de mieux comprendre l'évolution de l'isolement reproducteur et la formation d'espèces. A titre d'exemple, Nouhaud et al. (2018) ont mis en évidence des régions génomiques hautement différenciées entre trois races d'hôtes du puceron du pois, *Acyrtosiphon pisum*, qui comprenaient une grande proportion de gènes associés à l'utilisation de la plante hôte.

3. Déclinaison des résultats pour la gestion des ravageurs

Au vu des dégâts causés par *Drosophila suzukii* dans son aire envahie, de nombreux moyens ont été mobilisés pour tenter de trouver des méthodes de gestion efficace (Cini et al., 2012; Lee et al., 2011c). Les résultats obtenus dans cette thèse, et plus particulièrement la rapidité des réponses adaptatives de *D. suzukii* *in natura* mis en évidence, peuvent amener à quelques recommandations sur les méthodes de lutte à adopter contre ce ravageur.

Premièrement, ces résultats sont susceptibles d'apporter des informations utiles pour améliorer les méthodes de piégeage utilisées chez *D. suzukii*. Par le passé, de nombreuses études ont été menées pour développer différents types de pièges et attractants et identifier des caractéristiques améliorant la capture et la sélectivité du piégeage chez *D. suzukii* (ex. : Renkema et al., 2014; Lasa et al., 2017; Lee et al., 2013; Cha et al., 2018). Malgré cet effort important, les pièges et attractants utilisés ne sont pas encore d'une efficacité suffisante pour gérer ce ravageur (Cha et al., 2018; Cini et al., 2012). Nos résultats ont mis en évidence une forte préférence de ponte des femelles pour les milieux fruits contenant une forte concentration en phosphore, un résultat susceptible d'améliorer l'efficacité des systèmes de piégeages d'adultes. Jusqu'à présent, aucune étude ne s'est intéressée au lien probable du phosphore avec les préférences de ponte chez les drosophiles (mais voir King, 1954; King and Wilson, 1955; Markow et al., 1999 pour des études sur l'implication du phosphore dans la reproduction). Il serait ainsi important de tester directement le lien de causalité entre la concentration en phosphore de l'environnement et les préférences des femelles *D. suzukii*. Pour ce faire, il s'agirait de caractériser la relation entre la concentration en phosphore d'un milieu neutre et le choix de ponte des femelles (Fig. 3). Cette perspective d'étude est susceptible de fournir des informations utiles dans l'optique d'une meilleure gestion de *D. suzukii* sur le terrain par le biais de systèmes de piégeages d'adultes rendus potentiellement plus efficaces via l'ajout de phosphore dans le mélange attractif ajouté dans les pièges.

Deuxièmement, un autre type de lutte biologique contre les ravageurs des cultures est la technique des plantes pièges. Ces dernières sont des plantes utilisées pour la gestion de ravageurs phytophages car elles sont très attractives en tant que sites de ponte, mais le taux d'émergence des adultes sur ces fruits y est faible (Sarkar et al., 2018; Holden et al., 2012). Cette méthode, utilisée chez de nombreuses espèces, s'est avérée par exemple efficace pour lutter contre la punaise diabolique ravageuse de culture, *Halyomorpha halys*, dans des systèmes d'agriculture conventionnelle et biologique (Mathews et al., 2017; Nielsen et al., 2016; Blaauw et al., 2017). Poyet et al. (2015) ont suggéré d'utiliser de telles plantes comme pièges biologiques de *D. suzukii*, en les répartissant autour de cultures ciblées par ce ravageur. Nos résultats ont confirmé l'existence de ce type de plante, puisque le cassis fortement préféré pour les pontes par les femelles *D. suzukii* ne permettait pas le développement complet des larves. Néanmoins, les résultats de cette thèse concernant la dynamique d'adaptation locale de *D. suzukii* en condition naturelle suggèrent que les caractères liés à la préférence de ponte et à la performance des larves sont susceptibles d'évoluer très rapidement. On peut ainsi craindre que l'adaptation à ces pièges biologiques, plantés en grande quantité, soit relativement rapide. Cette évolution rapide est susceptible de remettre en question la durabilité de la méthode de gestion des plantes pièges.

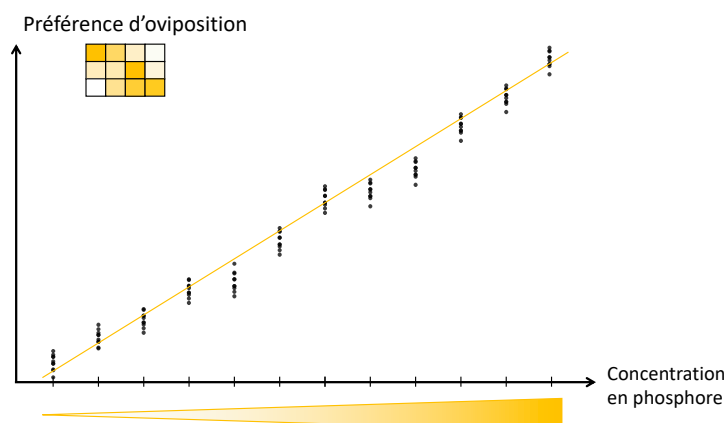


Figure 3 – Corrélation hypothétique entre le nombre d’œufs pondus et la concentration en phosphore du milieu. Ce type de résultats est attendu sous l’hypothèse d’une préférence de ponte pour les milieux riches en phosphore des femelles *D. suzukii*. La préférence des femelles est mesurée dans une enceinte de choix, représentée par le rectangle de 4x3 compartiments, contenant 12 milieux de concentration de phosphore croissante (représentée par le gradient de couleur jaune) distribué aléatoirement.

Une adaptation à la plante piège pourrait même *in fine* favoriser la croissance de la population des ravageurs. Ainsi, en quelques générations, l’effet souhaité des plantes pièges sur les cultures à intérêt agronomique pourrait être très préjudiciable. Il apparaît donc nécessaire d’étudier plus précisément les capacités adaptatives de *D. suzukii* sur des plantes pièges spécifiques (ex. : via des approches d’évolution expérimentale), ainsi que dans un environnement hétérogène avec plusieurs plantes hôtes, avant d’adopter cette stratégie de lutte.

Troisièmement, au vu des capacités adaptatives de l’espèce, l’orientation des activités agricoles et des itinéraires culturels ne sont pas à négliger. L’adaptation de *D. suzukii* aux fruits à fort intérêt agronomique s’avère très rapide *in natura* alors que le grain de l’hétérogénéité est spatialement et temporellement intermédiaire (seulement quelques générations sur chaque fruit, dans le paysage étudié). Dans ce contexte, il est intéressant de souligner que certaines pratiques agricoles intensives aboutissent à la production d’un même fruit sur de longues périodes. C’est le cas notamment de la production hors sol de fraises qui peut avoir lieu de mars à novembre en Europe (correspondant à environ une douzaine de générations de *D. suzukii*; Lieten, 2013), voire tout au long de l’année dans certaines régions de l’ouest des États-Unis (ex. : région de Watsonville en Californie). Du fait de l’adaptation locale renforcée, les dégâts engendrés par *D. suzukii* sur ce type de culture pourraient s’avérer beaucoup plus importants que pour des cultures court termes. Il est donc primordial de considérer le potentiel évolutif et les capacités adaptatives des populations, afin de choisir des méthodes de culture appropriées, par exemple, de type polyculture.

Quatrièmement, le développement des méthodes génomiques présentées précédemment

(voir section Architecture génétique), laisse entrevoir la possibilité d'utiliser l'information génétique à des fins de prédiction génomique. Ce type d'approche pourrait être utilisé de manière analogue aux approches de sélection génomique ou de prédiction de facteurs de risque en santé humaine. En effet, la caractérisation génétique d'une population envahissant un territoire, permettrait de présumer de son spectre d'hôtes potentiels, sans qu'il ne soit forcément nécessaire d'avoir identifié tous les gènes responsables. Néanmoins, cela est imaginable sous réserve que l'adaptation soit déterminée génétiquement et que l'on dispose de populations caractérisées à la fois génétiquement et phénotypiquement. Ce type de démarche novatrice contribuerait au développement d'outils prédictifs de gestion des ravageurs de cultures. A noter que sans ce type d'approche, il serait difficile, voire impossible de caractériser phénotypiquement les populations d'intérêt, puisqu'il faudrait recourir systématiquement à des approches très lourdes de génétique quantitative nécessitant, qui plus est, un temps supérieur à celui de la menace.

4. Implication de l'adaptation à la plante hôte dans le succès d'invasion

4.1 De l'absence apparente de détection de gènes liés à l'adaptation à la plante hôte

Au cours de cette thèse, j'ai tenté d'identifier les caractères susceptibles de favoriser le succès invasif de *D. suzukii*. Je me suis intéressée en parallèle à l'adaptation à la plante hôte, dans la mesure où ce caractère pouvait être envisagé comme potentiellement important dans le succès invasif.

En première analyse, aucune différenciation génomique associée au succès de l'invasion de *D. suzukii* n'a été mise en évidence pour des gènes connus pour être clairement impliqués dans l'utilisation de la plante hôte (ex. : gènes impliqués dans l'olfaction ou la digestion de certains fruits). Avant de conclure que l'utilisation de la plante hôte n'a probablement pas évolué au cours de l'invasion, il est important de rappeler que l'analyse a été réalisée à une échelle mondiale, intégrant une grande diversité d'écosystèmes, sur différentes périodes. Le dispositif avait donc très peu de puissance pour identifier des variants qui auraient été impliqués dans l'adaptation à des plantes hôtes présentes seulement dans quelques-unes des régions échantillonnées. Par ailleurs, l'identification des gènes associés au succès d'invasion a été réalisée à partir de l'annotation du génome de *D. melanogaster*. L'écologie de cette espèce, et plus précisément son adaptation à la plante hôte, reste peu connue. L'annotation des gènes associés à ce type de fonctions reste donc lacunaire chez *D. melanogaster*. Autrement dit, il reste possible que certains des gènes candidats identifiés lors de notre étude d'association aient un lien (au moins indirect) avec l'utilisation des plantes hôtes chez les drosophiles.

Pour tester plus directement si l'évolution de l'utilisation des plantes hôtes a joué un rôle dans le succès invasif chez *D. suzukii*, il serait judicieux de réaliser des analyses complémentaires. Après avoir décrit l'architecture génétique de caractères liés à l'adaptation à la plante hôte au laboratoire et *in natura*, il serait alors possible de tester plus précisément si les gènes identifiés ont

évolué au cours de l'invasion. Enfin, si les analyses de génomiques des populations indiquent une influence potentielle de l'utilisation de la plante hôte dans le succès de l'invasion, des expériences en jardin commun (voire de transplantation réciproque) sur un ensemble de populations natives et envahissantes devraient être menées afin de confirmer l'existence de différents patrons d'utilisation des plantes hôtes dans les deux aires.

4.2 Phénotype généraliste : cause ou conséquence de l'invasion ?

La colonisation d'un nouvel environnement lors d'un processus d'invasion biologique peut être associée à la colonisation de nouvelles plantes hôtes. Par exemple, *Tuta absoluta*, le ravageur de la tomate, invasif en Europe et en Afrique, a montré des adaptations spécifiques aux hôtes présents dans ces deux régions envahies (Sylla et al., 2019). Dans le cas de *D. suzukii*, une hypothèse serait donc qu'au cours de son invasion, cette espèce aurait augmenté sa gamme d'hôtes. Certains résultats obtenus au cours de cette thèse semblent contredire cette hypothèse. En effet, les approches de génomique d'association ne mettent pas en évidence une forte association entre succès invasif et adaptation à la plante hôte (mais voir les réserves émises précédemment sur ce point). Une hypothèse alternative et/ou contemporaine serait donc à privilégier, à savoir que les populations de *D. suzukii* natives étaient suffisamment généralistes pour permettre à l'espèce de coloniser et d'envahir de nouveaux environnements (plantes hôtes). Aucun changement évolutif majeur lié à la gamme d'hôte n'aurait donc eu lieu au cours de l'invasion.

Cette dernière hypothèse, connue sous le nom de « *niche breadth hypothesis* » (voir Introduction, encadré 3), vise à expliquer le fait que les espèces généralistes sont potentiellement plus envahissantes que les espèces spécialistes (Vazquez, 2006). La largeur d'une niche serait corrélée positivement avec le succès de l'invasion, de sorte que les espèces avec des niches larges (généralistes) sont plus susceptibles d'envahir de nouveaux environnements que les espèces avec des niches plus étroites (spécialistes). Les espèces généralistes seraient en effet, plus aptes à trouver les ressources nécessaires ou les conditions environnementales propices à leur implantation dans un nouvel environnement. Il existe un nombre limité d'études empiriques permettant de soutenir cette hypothèse (Sol, 2016 mais voir : Veltman et al., 1996; Ruesink, 2005; Rehage et al., 2005; McLain et al., 1999; Duncan et al., 2001 pour des exemples).

L'hypothèse « *AI* » (*Anthropogenically Induced Adaptation to Invade*, voir Introduction, encadré 3) est une deuxième hypothèse alternative qui expliquerait que *D. suzukii* n'ait pas ou peu élargi sa gamme d'hôtes au cours de l'invasion. Cette hypothèse souligne l'importance des processus éco-évolutifs ayant lieu au sein de l'aire native des espèces envahissantes et le rôle majeur de l'homme dans ces processus. Dans le cas de *D. suzukii*, les changements concerneraient les pratiques culturelles dans son aire native asiatique (*i.e.*, développement d'une agriculture plus intensive et production de nouveaux fruits également cultivés en Europe et Amérique). L'invasion de *D. suzukii* aurait alors été facilitée par une homogénéisation des paysages cultivés sur différentes aires géographiques au sein et en dehors de son aire native, en minimisant l'ampleur de la réponse évolutive requise pour s'adapter aux environnements culturels européens et américains. Cette hypothèse semble pertinente dans de nombreux cas d'invasion (Hufbauer et al.,

2012), notamment l'invasion du doryphore de la pomme de terre, *Leptinotarsa decemlineata*, un coléoptère natif d'Amérique pour lequel l'implantation et l'expansion en Europe ont été facilitées par l'émergence à partir du XVIII^{ème} siècle d'une culture intensive de la pomme de terre sur les deux continents (Forister et al., 2007). Cette hypothèse reste néanmoins fragile dans le cas de *D. suzukii* du fait du manque d'information sur les hôtes présents et effectivement utilisés par l'espèce dans son aire native.

5. Conclusion

Au cours de cette thèse, j'ai pu caractériser les réponses adaptatives de *D. suzukii* à différentes pressions de sélection exercées à grande échelle (*i.e.*, invasion mondiale) et à une échelle plus fine (*i.e.*, spécialisation écologique sur une partie de son aire envahie). En plus d'apports fondamentaux sur des questions liées aux processus adaptatifs, cette thèse a permis d'apporter des informations utiles pour la gestion de ce ravageur. En particulier, la rapidité des dynamiques d'adaptation observées dans les populations naturelles interroge quant à l'utilisation de certaines pratiques agricoles intensives, ainsi que la pertinence de l'utilisation de plantes pièges comme solution durable contre ce ravageur. Cette thèse a également permis de nombreux développements méthodologiques à la fois expérimentaux et statistiques. Les principaux apports expérimentaux correspondent à l'ensemble des protocoles d'élevage et de mesure de caractères phénotypiques que j'ai développés chez *D. suzukii*. De plus, j'ai développé des protocoles d'expériences de transplantations réciproques en conditions contrôlées, applicables à d'autres modèles biologiques. L'échantillonnage des populations naturelles de *D. suzukii* à partir de récoltes de fruits que j'ai réalisées sur deux années, a permis de mettre au point une base de données régionale sur des sites susceptibles d'être des foyers d'infection. Une des méthodes statistiques novatrices développées au cours de cette thèse (encore en cours de développement) porte sur la capacité à dissocier la part des effets non génétiques et génétiques dans l'adaptation phénotypique locale des populations. Enfin, le développement et l'application d'une méthode d'association basée sur une statistique de contraste, illustre la puissance inférentielle de cette approche pour mettre en évidence les associations entre variations génétiques et caractères binaires.

Si cette thèse a permis de répondre à de nombreuses questions, que ce soit dans le domaine des invasions biologiques ou de la spécialisation écologique, elle offre également de multiples perspectives d'étude tant sur des aspects fondamentaux relatifs à l'évolution des phytophages envahissants que sur des aspects appliqués concernant leur gestion.

Références

- Abjornsson, K., Hansson, L.-A., and Bronmark, C. (2004). Responses of prey from habitats with different predator regimes: local adaptation and heritability. *Ecology*, 85(7):1859–1866.
- Abraham, J., Zhang, A., Angeli, S., Abubeker, S., Michel, C., Feng, Y., and Rodriguez-Saona, C. (2015). Behavioral and antennal responses of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) to volatiles from fruit extracts. *Environmental Entomology*, 44(2):356–367.
- Adrion, J. R., Kousathanas, A., Pascual, M., Burrack, H. J., Haddad, N. M., Bergland, A. O., Machado, H., Sackton, T. B., Schlenke, T. A., Watada, M., Wegmann, D., and Singh, N. D. (2014). *Drosophila suzukii*: The genetic footprint of a recent, worldwide invasion. *Molecular Biology and Evolution*, 31(12):3148–3163.
- Agrawal, A. A. (2000). Host-range evolution : adaptation and trade-offs in fitness of mites on alternative hosts. *Ecology*, 81(2):500–508.
- Ahlroth, P., Alatalo, R. V., Holopainen, A., Kumpulainen, T., and Suhonen, J. (2003). Founder population size and number of source populations enhance colonization success in waterstriders. *Oecologia*, 137(4):617–620.
- Alberto, F. J., Boyer, F., Orozco-terWengel, P., Streeter, I., Servin, B., de Villemereuil, P., Benjelloun, B., Librado, P., Biscarini, F., Colli, L., Barbato, M., Zamani, W., Alberti, A., Engelen, S., Stella, A., Joost, S., Ajmone-Marsan, P., Negrini, R., Orlando, L., Rezaei, H. R., Naderi, S., Clarke, L., Flicek, P., Wincker, P., Coissac, E., Kijas, J., Tosser-Klopp, G., Chikhi, A., Bruford, M. W., Taberlet, P., and Pompanon, F. (2018). Convergent genomic signatures of domestication in sheep and goats. *Nat Commun*, 9(1):813.
- Allee, W. C. (1949). *Principles of animal ecology*. Saunders Co., Philadelphia.
- Allen, C. R., Nemec, K. T., Wardwell, D. A., Hoffman, J. D., Brust, M., Decker, K. L., Fogell, D., Hogue, J., Lotz, A., Miller, T., Pummill, M., Ramirez-Yañez, L. E., and Uden, D. R. (2013). Predictors of regional establishment success and spread of introduced non-indigenous vertebrates. *Global Ecology and Biogeography*, 22(7):889–899.
- Alonso, A. and Castro-Díez, P. (2008). What explains the invading success of the aquatic mud snail *Potamopyrgus antipodarum* (Hydrobiidae, Mollusca)? *Hydrobiologia*, 614(1):107–116.
- Aly (2018). Laboratory host selection and development of immature *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on fruits and artificial diets. *Journal of Phytopathology and Pest Management*, 5(2):129–142.
- Alzate, A., Bisschop, K., Etienne, R. S., and Bonte, D. (2017). Interspecific competition counteracts negative effects of dispersal on adaptation of an arthropod herbivore to a new host. *Journal of Evolutionary Biology*, 30(11):1966–1977.
- Amselem, L., Brouat, C., Duron, O., Porter, S. S., Vilcinskas, A., and Facon, B. (2017). Chap 3. Importance of microorganisms to macroorganisms invasions: is the essential invisible to the eye? (The little prince, A. de Saint-Exupéry, 1943). In Bohan, D. A., Dumbrell, A. J., and Massol, F., editors, *Advances in Ecological Research*, volume 57 of *Networks of Invasion: Empirical Evidence and Case Studies*, pages 99–146. Academic Press.
- Amstrup, S. C., McDonald, T. L., and Manly, B. F. (2005). *Handbook of capture-recapture analysis*. Princeton University Press.

RÉFÉRENCES

- Amundsen, P.-A., Salonen, E., Niva, T., Gjelland, K. O., Præbel, K., Sandlund, O. T., Knudsen, R., and Bohn, T. (2012). Invader population speeds up life history during colonization. *Biological Invasions*, 14(7):1501–1513.
- Anagnostou, C., Dorsch, M., and Rohlf, M. (2010). Influence of dietary yeasts on *Drosophila melanogaster* life-history traits. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 136(1):1–11.
- Andersen, L. H., Kristensen, T. N., Loeschcke, V., Toft, S., and Mayntz, D. (2010). Protein and carbohydrate composition of larval food affects tolerance to thermal stress and desiccation in adult *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, 56(4):336–340.
- Anderson, B. and Johnson, S. D. (2008). The geographical mosaic of coevolution in a plant–pollinator mutualism. *Evolution*, 62(1):220–225.
- Angilletta, M. J., Wilson, R. S., Navas, C. A., and James, R. S. (2003). Tradeoffs and the evolution of thermal reaction norms. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(5):234–240.
- Arnó, J., Solà, M., Riudavets, J., and Gabarra, R. (2016). Population dynamics, non-crop hosts, and fruit susceptibility of *Drosophila suzukii* in Northeast Spain. *Journal of Pest Science*, 89(3):713–723.
- Ashburner, M., Golic, K. G., and Hawley, S. (2005). *Drosophila: a laboratory handbook. Second edition.*, volume 80.
- Asplen, M. K., Anfora, G., Biondi, A., Choi, D. S., Chu, D., Daane, K. M., Gibert, P., Gutierrez, A. P., Hoelmer, K. A., Hutchison, W. D., Isaacs, R., Jiang, Z. L., Karpati, Z., Kimura, M. T., Pascual, M., Philips, C. R., Plantamp, C., Ponti, L., Vetek, G., Vogt, H., Walton, V. M., Yu, Y., Zappala, L., and Desneux, N. (2015). Invasion biology of spotted wing drosophila (*Drosophila suzukii*): a global perspective and future priorities. *Journal of Pest Science*, 88(3):469–494.
- Atallah, J., Teixeira, L., Salazar, R., Zaragoza, G., and Kopp, A. (2014). The making of a pest: the evolution of a fruit-penetrating ovipositor in *Drosophila suzukii* and related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281:1–9.
- Auld, J. R., Agrawal, A. A., and Relyea, R. A. (2010). Re-evaluating the costs and limits of adaptive phenotypic plasticity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1681):503–511.
- Awmack, C. S. and Leather, S. R. (2002). Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, 47:817–844.
- Baker, H. G. and Stebbins, editors (1965). *The genetics of colonizing species; proceedings*. Academic Press, New York. OCLC: 384980.
- Bakker, K. (1962). An analysis of factors which determine success in competition for food among larvae of *Drosophila melanogaster*. *Archives Néerlandaises de Zoologie*, 14(2):200–281.
- Balanya, J. (2006). Global genetic change tracks global climate warming in *Drosophila subobscura*. *Science*, 313(5794):1773–1775.
- Baldwin, J. M. (1896). A new factor in evolution. *The American Naturalist*, 30(354):441–451.
- Barker, B. S., Cocio, J. E., Anderson, S. R., Braasch, J. E., Cang, F. A., Gillette, H. D., and Dlugosch, K. M. (2019). Potential limits to the benefits of admixture during biological invasion. *Molecular Ecology*, 28(1):100–113.
- Barragan-Fonseca, K. B., Dicke, M., and Loon, J. J. A. v. (2018). Influence of larval density and dietary nutrient concentration on performance, body protein, and fat contents of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 166(9):761–770.
- Barrett, R. D. H., Laurent, S., Mallarino, R., Pfeifer, S. P., Xu, C. C. Y., Foll, M., Wakamatsu, K., Duke-Cohan, J. S., Jensen, J. D., and Hoekstra, H. E. (2019). Linking a mutation to survival in wild mice. *Science*,

363(6426):499–504.

- Barrett, R. D. H. and Schluter, D. (2008). Adaptation from standing genetic variation. *Trends in ecology & evolution*, 23(1):38–44.
- Barrett, S. C. H. (2015). Foundations of invasion genetics: the baker and stebbins legacy. *Molecular Ecology*, 24(9):1927–1941.
- Barrett, S. C. H. and Husband, B. C. (1990). The genetics of plant migration and colonization. *Plant population genetics, breeding, and genetic resources.*, pages 254–277.
- Bassett, A., Tibbit, C., Ponting, C., and Liu, J.-L. (2013). Highly efficient targeted mutagenesis of *Drosophila* with the CRISPR/Cas9 system. *Cell Reports*, 4(1):220–228.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., and Walker, S. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1):1–48.
- Bay, R. A., Rose, N., Barrett, R., Bernatchez, L., Ghalambor, C. K., Lasky, J. R., Brem, R. B., Palumbi, S. R., and Ralph, P. (2017). Predicting responses to contemporary environmental change using evolutionary response architectures. *The American Naturalist*, 189(5):463–473.
- Becker, C. and Weigel, D. (2012). Epigenetic variation: origin and transgenerational inheritance. *Current Opinion in Plant Biology*, 15(5):562–567.
- Bedhomme, S., Lafforgue, G., and Elena, S. F. (2012). Multihost experimental evolution of a plant RNA virus reveals local adaptation and host-specific mutations. *Molecular Biology and Evolution*, 29(5):1481–1492.
- Behmer, S. T. (2009). Insect herbivore nutrient regulation. *Annual Review of Entomology*, 54:165–187.
- Bellamy, D. E., Sisterson, M. S., and Walse, S. S. (2013). Quantifying host potentials: indexing postharvest fresh fruits for spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*. *PLoS ONE*, 8(4).
- Bellen, H. J., Tong, C., and Tsuda, H. (2010). 100 years of *Drosophila* research and its impact on vertebrate neuroscience: a history lesson for the future. *Nature reviews. Neuroscience*, 11(7):514–522.
- Bellen, H. J., Vaessin, H., Bier, E., Kolodkin, A., D’Evelyn, D., Kooyer, S., and Yuh Nung Jan (1992). The *Drosophila* couch potato gene: An essential gene required for normal adult behavior. *Genetics*, 131(2):365–375.
- Bellutti, N., Gallmetzer, A., Innerebner, G., Schmidt, S., Zelger, R., and Koschier, E. H. (2018). Dietary yeast affects preference and performance in *Drosophila suzukii*. *Journal of Pest Science*, 91(2):651–660.
- Benjamini, Y. and Hochberg, Y. (1995). Controlling the false discovery rate - a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B: Methodological*, (57):287–300.
- Bennett, A. F. and Lenski, R. E. (2007). An experimental test of evolutionary trade-offs during temperature adaptation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104:8649–8654.
- Berg, M. P., Kiers, E. T., Driessen, G., Heijden, M. V. D., Kooi, B. W., Kuenen, F., Liefting, M., Verhoef, H. A., and Ellers, J. (2010). Adapt or disperse: understanding species persistence in a changing world. *Global Change Biology*, 16(2):587–598.
- Bergland, A. O., Behrman, E. L., O’Brien, K. R., Schmidt, P. S., and Petrov, D. A. (2014). Genomic evidence of rapid and stable adaptive oscillations over seasonal time scales in *Drosophila*. *PLoS Genetics*, 10(11).
- Berlocher, S. H. and Feder, J. L. (2002). Sympatric speciation in phytophagous insects: moving beyond controversy? *Annual review of entomology*, 47:773–815.
- Bernays, E. and Chapman, R. F. (1994). *Host-plant selection by phytophagous insects*. New York, chapman & edition.

RÉFÉRENCES

- Berner, D. and Thibert-Plante, X. (2015). How mechanisms of habitat preference evolve and promote divergence with gene flow. *Journal of evolutionary biology*, 28(9):1641–1655.
- Bertelsmeier, C. and Keller, L. (2018). Bridgehead effects and role of adaptive evolution in invasive populations. *Trends in Ecology & Evolution*, 33(7):527–534.
- Bishop, J. A. and Cook, L. M. (1980). Industrial melanism and the urban environment. In MacFadyen, A., editor, *Advances in Ecological Research*, volume 11, pages 373–404. Academic Press.
- Bisschop, K., Mortier, F., Etienne, R. S., and Bonte, D. (2019). Transient local adaptation and source–sink dynamics in experimental populations experiencing spatially heterogeneous environments. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286(1905):20190738.
- Blaauw, B. R., Morrison, W. R., Mathews, C., Leskey, T. C., and Nielsen, A. L. (2017). Measuring host plant selection and retention of *Halyomorpha halys* by a trap crop. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 163(2):197–208.
- Blair, A. C. and Wolfe, L. M. (2004). The evolution of an invasive plant: an experimental study with *Silene latifolia*. *Ecology*, 85(11):3035–3042.
- Blanquart, F., Kaltz, O., Nuismer, S. L., and Gandon, S. (2013). A practical guide to measuring local adaptation. *Ecology Letters*, 16(9):1195–1205.
- Blossey, B. and Notzold, R. (1995). Evolution of increased competitive ability in invasive nonindigenous plants: a hypothesis. *Journal of Ecology*, 83(5):887–889.
- Bock, D. G., Caseys, C., Cousens, R. D., Hahn, M. A., Heredia, S. M., Hübner, S., Turner, K. G., Whitney, K. D., and Rieseberg, L. H. (2015). What we still don't know about invasion genetics. *Molecular Ecology*, 24(9):2277–2297.
- Bolda, M. P., Goodhue, R. E., and Zalom, F. G. (2010). Spotted wing drosophila: potential economic impact of a newly established pest. *Agricultural and Resource Economics Up- date, Giannini Foundation of Agricultural Economics, University of California*, 13(3):5–8.
- Bolnick, D. I. and Svanba, R. (2003). The ecology of individuals: incidence and implications of individual specialization. *American Naturalist*, 161(1):30.
- Bonamour, S., Chevin, L.-M., Charmantier, A., and Teplitsky, C. (2019). Phenotypic plasticity in response to climate change: the importance of cue variation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 374(1768):20180178.
- Bone, E. and Farres, A. (2001). Trends and rates of microevolution in plants. *Genetica*, 112(1):165–182.
- Bonhomme, M., Chevalet, C., Servin, B., Boitard, S., Abdallah, J., Blott, S., and Sancristobal, M. (2010). Detecting selection in population trees: the Lewontin and Krakauer test extended. *Genetics*, 186(1):241–262.
- Bonte, D., Dyck, H. V., Bullock, J. M., Coulon, A., Delgado, M., Gibbs, M., Lehouck, V., Matthysen, E., Mustin, K., Saastamoinen, M., Schtickzelle, N., Stevens, V. M., Vandewoestijne, S., Baguette, M., Barton, K., Benton, T. G., Chaput-Bardy, A., Clobert, J., Dytham, C., Hovestadt, T., Meier, C. M., Palmer, S. C. F., Turlure, C., and Travis, J. M. J. (2012). Costs of dispersal. *Biological Reviews*, 87(2):290–312.
- Bossart, J. L. (2003). Covariance of preference and performance on normal and novel hosts in a locally monophagous and locally polyphagous butterfly population. *Oecologia*, 135(3):477–486.
- Bossdorf, O., Auge, H., Lafuma, L., Rogers, W. E., Siemann, E., and Prati, D. (2005). Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plant populations. *Oecologia*, 144(1):1–11.
- Bossert, W. H. (1963). *Simulation of character displacement*. Unpublished Ph.D. Thesis. PhD thesis, Harvard

-
- University, Cambridge, Massachusetts.
- Botella, L. M., Moya, A., González, M. C., and Ménsua, J. L. (1985). Larval stop, delayed development and survival in overcrowded cultures of *Drosophila melanogaster*: effect of urea and uric acid. *Journal of Insect Physiology*, 31(3):179–185.
- Botero, C. A., Weissing, F. J., Wright, J., and Rubenstein, D. R. (2015). Evolutionary tipping points in the capacity to adapt to environmental change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(1):184–189.
- Bradburd, G. S. and Ralph, P. L. (2016). Spatial population genetics: it's about time. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*.
- Bradshaw, A. D. (1965). Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. In *Advances in Genetics*, volume 13, pages 115–155. Academic Press.
- Bradshaw, A. D. (1984). Ecological significance of genetic variation between populations. *Perspectives on plant population ecology / edited by Rodolfo Dirzo and Jose Sarukhan*.
- Breitmeyer, C. M. and Markow, T. A. (1998). Resource availability and population size in cactophilic *Drosophila*. *Functional Ecology*, 12(1):14–21.
- Briem, F., Eben, A., Gross, J., and Vogt, H. (2016). An invader supported by a parasite: Mistletoe berries as a host for food and reproduction of spotted wing drosophila in early spring. *Journal of Pest Science*, 89(3):749–759.
- Brown, A. H. D. and Marshall, D. R. (1981). Evolutionary changes accompanying colonization in plants. In *Evolution Today: Proceedings Second International Congress and Evolutionary Biology*. Hunt Institute, Pittsburgh.
- Buchner, P. (1965). *Endosymbiosis of animals with plant microorganisms.*, volume 7. John Wiley & Sons, Ltd, New York.
- Buckling, A., Brockhurst, M. A., Travisano, M., and Rainey, P. B. (2007). Experimental adaptation to high and low quality environments under different scales of temporal variation. *Journal of Evolutionary Biology*, 20(1):296–300.
- Burke, M. K. and Rose, M. R. (2009). Experimental evolution with *Drosophila*. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 296(6):R1847–R1854.
- Burns, J. G., Foucaud, J., and Mery, F. (2011). Costs of memory: lessons from ‘mini’ brains. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278(1707):923–929.
- Burrack, H. J., Fernandez, G. E., Spivey, T., and Kraus, D. A. (2013). Variation in selection and utilization of host crops in the field and laboratory by *Drosophila suzukii* Matsumara (Diptera: Drosophilidae), an invasive frugivore. *Pest Management Science*, 69(10):1173–1180.
- Bünger, L. and Hill, W. G. (1999). Inbred lines of mice derived from long-term divergent selection on fat content and body weight. *Mammalian Genome*, 10(6):645–648.
- Calabria, G., Máca, J., Bächli, G., Serra, L., and Pascual, M. (2012). First records of the potential pest species *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in Europe. *Journal of Applied Entomology*, 136(1-2):139–147.
- Callaway, R. M. and Aschehoug, E. T. (2000). Invasive plants *versus* their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. *Science (New York, N.Y.)*, 290(5491):521–523.
- Callaway, R. M. and Ridenour, W. M. (2004). Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2(8):436–443.

RÉFÉRENCES

- Carlton, J. T. and Geller, J. B. (1993). Ecological roulette: the global transport of nonindigenous marine organisms. *Science*, 261(5117):78–82.
- Carrel, J. E. and Tanner, E. M. (2004). Sex-specific food preferences in the Madagascar hissing cockroach *Gromphadorhina portentosa* (Dictyoptera: Blaberidae). *Journal of Insect Behavior*, 15:707–714.
- Carvalho, D. D., Ingvarsson, P. K., Joseph, J., Suter, L., Sedivy, C., Macaya-Sanz, D., Cottrell, J., Heinze, B., Schanzer, I., and Lexer, C. (2010). Admixture facilitates adaptation from standing variation in the European aspen (*Populus tremula* L.), a widespread forest tree. *Molecular Ecology*, 19(8):1638–1650.
- Cates, R. G. (1980). Feeding patterns of monophagous, oligophagous, and polyphagous insect herbivores: The effect of resource abundance and plant chemistry. *Oecologia*, 46(1):22–31.
- Cha, D. H., Hesler, S. P., Wallingford, A. K., Zaman, F., Jentsch, P., Nyrop, J., and Loeb, G. M. (2018). Comparison of commercial lures and food baits for early detection of fruit infestation risk by *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Economic Entomology*, 111(2):645–652. WOS:000429319200019.
- Chabert, S., Allemand, R., Poyet, M., Eslin, P., and Gibert, P. (2012). Ability of European parasitoids (Hymenoptera) to control a new invasive Asiatic pest, *Drosophila suzukii*. *Biological Control*, 63(1):40–47.
- Charlery de la Masselière, M., Facon, B., Hafsi, A., and Duyck, P.-F. (2017). Diet breadth modulates preference - performance relationships in a phytophagous insect community. *Scientific Reports*, 7(1):1–9.
- Charlesworth, B. (1994). *Evolution in age-structured populations*. Cambridge Studies in Mathematical Biology. Cambridge University Press, 2 edition.
- Chen, I.-C., Hill, J. K., Ohlemüller, R., Roy, D. B., and Thomas, C. D. (2011). Rapid range shifts of species associated with high levels of climate warming. *Science*, 333(6045):1024–1026.
- Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y., and Gu, J. (2018). fastp: an ultra-fast all-in-one fastq preprocessor. *Bioinformatics*, 34(17):i884–i890.
- Chevin, L.-M., Lande, R., and Mace, G. M. (2010). Adaptation, plasticity, and extinction in a changing environment: towards a predictive theory. *PLOS Biology*, 8(4):e1000357.
- Chew, F. S. (1977). Coevolution of pierid butterflies and their cruciferous foodplants. II. The distribution of eggs on potential foodplants. *Evolution*, 31:568–579.
- Chew, F. S. and Courtney, S. P. (1991). Plant apparency and evolutionary escape from insect herbivory. *The American Naturalist*, 138(3):729–750.
- Chew, F. S. and Renwick, J. A. A. (1995). Host plant choice in *Pieris* butterflies. In Cardé, R. T. and Bell, W. J., editors, *Chemical Ecology of Insects 2*, pages 214–238. Springer US, Boston, MA.
- Chiu, J. C., Jiang, X., Zhao, L., Hamm, C. A., Cridland, J. M., Saelao, P., Hamby, K. A., Lee, E. K., Kwok, R. S., Zhang, G., Zalom, F. G., Walton, V. M., and Begun, D. J. (2013). Genome of *Drosophila suzukii*, the spotted wing drosophila. *G3 (Bethesda, Md.)*, 3(12):2257–71.
- Cini, A., Ioriatti, C., and Anfora, G. (2012). A review of the invasion of *Drosophila suzukii* in Europe and a draft research agenda for integrated pest management. *Bulletin of Insectology*, 65(1):149–160.
- Clark, A. G. and Fucito, C. D. (1998). Stress tolerance and metabolic response to stress in *Drosophila melanogaster*. *Heredity*, 81(5):514–527.
- Clemente, F., Gautier, M., and Vitalis, R. (2018). Inferring sex-specific demographic history from snp data. *PLoS Genet.*, 14(1):e1007191.
- Colautti, R. I. and Barrett, S. C. H. (2013). Rapid adaptation to climate facilitates range expansion of an invasive plant. *Science*, 342(6156):364–366.

-
- Colautti, R. I., Grigorovich, I. A., and MacIsaac, H. J. (2006). Propagule pressure: a null model for biological invasions. *Biological Invasions*, 8(5):1023–1037.
- Colautti, R. I. and Lau, J. A. (2015). Contemporary evolution during invasion: evidence for differentiation, natural selection, and local adaptation. *Molecular Ecology*, 24(9):1999–2017.
- Colautti, R. I., Ricciardi, A., Grigorovich, I. A., and MacIsaac, H. J. (2004). Is invasion success explained by the enemy release hypothesis? *Ecology Letters*, 7(8):721–733.
- Cook, L. M. and Grant, B. S. (2000). Frequency of insularia during the decline in melanics in the peppered moth *Biston betularia* in Britain. *Heredity*, 85(Pt 6):580–585.
- Coop, G., Witonsky, D., Rienzo, A. D., and Pritchard, J. K. (2010). Using environmental correlations to identify loci underlying local adaptation. *Genetics*, 185(4):1411–1423.
- Cooper, V. S. and Lenski, R. E. (2000). The population genetics of ecological specialization in evolving *Escherichia coli* populations. *Nature*, 407(6805):736–739.
- Cotton, S., Fowler, K., and Pomiankowski, A. (2004). Condition dependence of sexual ornament size and variation in the stalk-eyed fly *Cyrtodiopsis dalmanni* (Diptera: Diopsidae). *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 58(5):1038–1046.
- Cox, W. G. (2004). Alien species and evolution: the evolutionary ecology of exotic plants, animals, microbes and interacting native species. *Island Press, Washington*, pages 377p–377p.
- Craig, T. P. and Itami, J. K. (2008). Evolution of preference and performance relationships. In *Specialization, Speciation, and Radiation. The Evolutionary Biology of Herbivorous Insects*. K. J. Tilmon, university of california press, berkeley edition.
- Crespi, B. J. (1989). Causes of assortative mating in arthropods. *Animal Behaviour*, 38(6):980–1000.
- Cronin, J. T., Abrahamson, W. G., and Craig, T. P. (2001). Temporal variation in herbivore host-plant preference and performance: constraints on host-plant adaptation. *Oikos*, 93(2):312–320.
- Daane, K. M., Wang, X. G., Biondi, A., Miller, B., Miller, J. C., Riedl, H., Shearer, P. W., Guerrieri, E., Giorgini, M., Buffington, M., van Achterberg, K., Song, Y., Kang, T., Yi, H., Jung, C., Lee, D. W., Chung, B. K., Hoelmer, K. A., and Walton, V. M. (2016). First exploration of parasitoids of *Drosophila suzukii* in South Korea as potential classical biological agents. *Journal of Pest Science*, 89(3):823–835.
- Darwin, C. (1859). *On the Origin of Species*. John Murray.
- Davidson, A. M., Jennions, M., and Nicotra, A. B. (2011). Do invasive species show higher phenotypic plasticity than native species and, if so, is it adaptive? A meta-analysis. *Ecology Letters*, 14(4):419–431.
- de Villemereuil, P., Frichot, E., Bazin, E., Francois, O., and Gaggiotti, O. E. (2014). Genome scan methods against more complex models: when and how much should we trust them? *Mol Ecol*, 23(8):2006–2019.
- de Villemereuil, P. and Gaggiotti, O. E. (2015). A new FST-based method to uncover local adaptation using environmental variables. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(11):1248–1258.
- Deprá, M., Poppe, J. L., Schmitz, H. J., De Toni, D. C., and Valente, V. L. S. (2014). The first records of the invasive pest *Drosophila suzukii* in the South American continent. *Journal of Pest Science*, 87(3):379–383.
- Devictor, V., Clavel, J., Julliard, R., Lavergne, S., Mouillot, D., Thuiller, W., Venail, P., Villéger, S., and Mouquet, N. (2010). Defining and measuring ecological specialization. *Journal of Applied Ecology*, 47(1):15–25.
- DeWitt, T. J. and Scheiner, S. M. (2004). *Phenotypic plasticity: functional and conceptual approaches*. OUP USA, Oxford ; New York.
- Dewitt, T. J., Sih, A., and Wilson, D. S. (1998). Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology & Evolution*, 13(2):77–81.

RÉFÉRENCES

- Dicke, M. (2000). Chemical ecology of host-plant selection by herbivorous arthropods: a multitrophic perspective. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(7):601–617.
- Diepenbrock, L. M., Swoboda-Bhattarai, K. A., and Burrack, H. J. (2016). Ovipositional preference, fidelity, and fitness of *Drosophila suzukii* in a co-occurring crop and non-crop host system. *Journal of Pest Science*, 89(3):761–769.
- Dlugosch, K. M., Anderson, S. R., Braasch, J., Cang, F. A., and Gillette, H. D. (2015). The devil is in the details: genetic variation in introduced populations and its contributions to invasion. *Molecular Ecology*, 24(9):2095–2111.
- Dlugosch, K. M. and Parker, I. M. (2008). Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Molecular ecology*, 17(1):431–449.
- Dobzhansky, T. (1947). Adaptive changes induced by natural selection in wild populations of *Drosophila*. *Evolution*, 1(1/2):1–16.
- Douglas, A. E. (2009). The microbial dimension in insect nutritional ecology. *Functional Ecology*, 23(1):38–47.
- Dudley, J. W. (2007). From means to QTL: the illinois long-term selection experiment as a case study in quantitative genetics. *Crop Science*, 47(Supplement_3):S–20–S–31.
- Duncan, R. P., Blackburn, T. M., and Sol, D. (2003). The ecology of bird introductions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 34(1):71–98.
- Duncan, R. P., Bomford, M., Forsyth, D. M., and Conibear, L. (2001). High predictability in introduction outcomes and the geographical range size of introduced Australian birds: a role for climate. *Journal of Animal Ecology*, 70(4):621–632.
- Dunnington, E. A. and Siegel, P. B. (1996). Long-term divergent selection for eight-week body weight in white plymouth rock chickens. *Poultry Science*, 75(10):1168–1179.
- Dworkin, I. and Jones, C. D. (2009). Genetic changes accompanying the evolution of host specialization in *Drosophila sechellia*. *Genetics*, 181(2):721–736.
- Edelaar, P., Jovani, R., and Gomez-Mestre, I. (2017). Should I change or should I go? Phenotypic plasticity and matching habitat choice in the adaptation to environmental heterogeneity. *The American Naturalist*, 190(4):506–520.
- Eizaguirre, C. and Lenz, T. L. (2010). Major histocompatibility complex polymorphism: dynamics and consequences of parasite-mediated local adaptation in fishes. *Journal of Fish Biology*, 77(9):2023–2047.
- Ellstrand, N. C. and Schierenbeck, K. A. (2000). Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(13):7043–7050.
- Elsensohn, J. and Loeb, G. (2018). Non-crop host sampling yields insights into small-scale population dynamics of *Drosophila suzukii* (Matsumura). *Insects*, 9(1):5.
- Elton, C. S. (1958). *The ecology of invasions by animals and plants*. University of Chicago Press.
- Emiljanowicz, L. M., Ryan, G. D., Langille, A., and Newman, J. (2014). Development, reproductive output and population growth of the fruit fly pest *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on artificial diet. *Journal of Economic Entomology*, 107(4):1392–1398.
- Eoche-Bosy, D., Gautier, M., Esquibet, M., Legeai, F., Bretaudeau, A., Bouchez, O., Fournet, S., Grenier, E., and Montarry, J. (2017). Genome scans on experimentally evolved populations reveal candidate regions for adaptation to plant resistance in the potato cyst nematode *globodera pallida*. *Mol. Ecol.*, 26(18):4700–4711.

-
- Estoup, A., Ravigné, V., Hufbauer, R., Vitalis, R., Gautier, M., and Facon, B. (2016). Is there a genetic paradox of biological invasion? *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 47(1):51–72.
- Facon, B., Genton, B. J., Shykoff, J., Jarne, P., Estoup, A., and David, P. (2006). A general eco-evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends in Ecology & Evolution*, 21(3):130–135.
- Facon, B., Hufbauer, R., Tayeh, A., Loiseau, A., Lombaert, E., Vitalis, R., Guillemaud, T., Lundgren, J., and Estoup, A. (2011). Inbreeding depression is purged in the invasive insect *Harmonia axyridis*. *Current Biology*, 21(5):424–427.
- Facon, B., Pointier, J. P., Jarne, P., Sarda, V., and David, P. (2008). High genetic variance in life-history strategies within invasive populations by way of multiple introductions. *Current Biology*, 18(5):363–367.
- Falconer, D. S. (1960). *Introduction to quantitative genetics*. Facsimile Publisher.
- Fariello, M. I., Boitard, S., Mercier, S., Robelin, D., Faraut, T., Arnould, C., Recoquillay, J., Bouchez, O., Salin, G., Dehais, P., Gourichon, D., Leroux, S., Pitel, F., Leterrier, C., and SanCristobal, M. (2017). Accounting for linkage disequilibrium in genome scans for selection without individual genotypes: The local score approach. *Mol. Ecol.*, 26(14):3700–3714.
- Farine, J.-P., Habbachi, W., Cortot, J., Roche, S., and Ferveur, J.-E (2017). Maternally-transmitted microbiota affects odor emission and preference in *Drosophila* larva. *Scientific Reports*, 7(1):1–10.
- Fellous, S., Angot, G., Orsucci, M., Migeon, A., Auger, P., Olivieri, I., and Navajas, M. (2014). Combining experimental evolution and field population assays to study the evolution of host range breadth. *Journal of Evolutionary Biology*, 27(5):911–919.
- Ferrari, J., Godfray, H. C. J., Faulconbridge, A. S., Prior, K., and Via, S. (2006). Population differentiation and genetic variation in host choice among pea aphids from eight host plant genera. *Evolution*, 60(8):1574–1584.
- Ferry-Graham, L. A., Bolnick, D. I., and Wainwright, P. C. (2002). Using functional morphology to examine the ecology and evolution of specialization. *Integrative and Comparative Biology*, 42(2):265–277.
- Filchak, K. E., Roethele, J. B., and Feder, J. L. (2000). Natural selection and sympatric divergence in the apple maggot *Rhagoletis pomonella*. *Nature*, 407(6805):739–742.
- Fisher, R. A. (1930). *The genetical theory of natural selection*. The Clarendon Press.
- Foll, M., Gaggiotti, O. E., Daub, J. T., Vatsiou, A., and Excoffier, L. (2014). Widespread signals of convergent adaptation to high altitude in asia and america. *Am. J. Hum. Genet.*, 95(4):394–407.
- Forister, M., Dyer, A. L., Singer, S. M., Stireman, O. J., and Lill, J. T. (2012). Revisiting the evolution of ecological specialization, with emphasis on insect-plant interactions. *Ecology*, 93(5):981–991.
- Forister, M. L., Ehmer, A. G., and Futuyma, D. J. (2007). The genetic architecture of a niche: variation and covariation in host use traits in the Colorado potato beetle. *Journal of Evolutionary Biology*, 20(3):985–996.
- Frachon, L., Bartoli, C., Carrère, S., Bouchez, O., Chaubet, A., Gautier, M., Roby, D., and Roux, F. (2018). A genomic map of climate daptation in *Arabidopsis thaliana* at a micro-geographic scale. *Frontiers in Plant Science*, 9.
- Fraimout, A., Debat, V., Fellous, S., Hufbauer, R. A., Foucaud, J., Pudlo, P., Marin, J.-M., Price, D. K., Cattel, J., Chen, X., Deprá, M., François Duyck, P., Guedot, C., Kenis, M., Kimura, M. T., Loeb, G., Loiseau, A., Martinez-Sañudo, I., Pascual, M., Polihronakis Richmond, M., Shearer, P., Singh, N., Tamura, K., Xuéreb, A., Zhang, J., and Estoup, A. (2017). Deciphering the routes of invasion of *Drosophila suzukii* by means of ABC random forest. *Molecular Biology and Evolution*, 34(4):980–996.

RÉFÉRENCES

- Franceschi, N., Cornet, S., Bollache, L., Dechaume-Moncharmont, F.-X., Bauer, A., Motreuil, S., and Rigaud, T. (2010). Variation between populations and local adaptation in acanthocephalan-induced parasite manipulation. *Evolution*, 64(8):2417–2430.
- Franzén, M. and Nilsson, S. G. (2010). Both population size and patch quality affect local extinctions and colonizations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1678):79–85.
- François, O., Martins, H., Caye, K., and Schoville, S. D. (2016). Controlling false discoveries in genome scans for selection. *Mol. Ecol.*, 25(2):454–69.
- Frichot, E., Schoville, S. D., Bouchard, G., and Francois, O. (2013). Testing for associations between loci and environmental gradients using latent factor mixed models. *Mol Biol Evol*, 30(7):1687–1699.
- Frichot, E., Schoville, S. D., de Villemereuil, P., Gaggiotti, O. E., and Francois, O. (2015). Detecting adaptive evolution based on association with ecological gradients: Orientation matters! *Heredity (Edinb)*.
- Fry, J. D. (1990). Trade-offs in fitness on different hosts: evidence from a selection experiment with a phytophagous mite. *The American Naturalist*, 136(5):569–580.
- Fry, J. D. (1996). The evolution of host specialization: are trade-offs overrated? *The American Naturalist*, 148:84–107.
- Fukano, Y. and Nakayama, S. (2018). An experimental test of trade-offs associated with the adaptation to alternate host plants in the introduced herbivorous beetle, *Ophraella communa*. *Journal of Insect Behavior*, 31(5):490–502.
- Futuyma, D. J. (1976). Food plant specialization and environmental predictability in Lepidoptera. *The American Naturalist*, 110(972):285–292.
- Futuyma, D. J. and Moreno, G. (1988). The evolution of ecological specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution Systematics*, 19(20):207–233.
- Gallet, R., Latour, Y., Hughes, B. S., and Lenormand, T. (2014). The dynamics of niche evolution upon abrupt environmental change. *Evolution*, 68(5):1257–1269.
- Gandon, S., Capowiez, Y., Dubois, Y., Michalakakis, Y., and Olivieri, I. (1996). Local adaptation and gene-for-gene coevolution in a metapopulation model. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 263(1373):1003–1009.
- García-Robledo, C. and Horvitz, C. C. (2012). Parent-offspring conflicts, "optimal bad motherhood" and the "mother knows best" principles in insect herbivores colonizing novel host plants. *Ecology and Evolution*, 2(7):1446–1457.
- Garland, T. and Rose, M. R. (2009). *Experimental evolution: concepts, methods, and applications of selection experiments*. University of California Press; First edition.
- Garrido, E., Andraca-Gómez, G., and Fornoni, J. (2012). Local adaptation: simultaneously considering herbivores and their host plants. *New Phytologist*, 193(2):445–453.
- Gautier, M. (2015). Genome-wide scan for adaptive divergence and association with population-specific covariates. *Genetics*, 201(4):1555–1579.
- Gautier, M., Foucaud, J., Gharbi, K., Cezard, T., Galan, M., Loiseau, A., Thomson, M., Pudlo, P., Kerdelhue, C., and Estoup, A. (2013). Estimation of population allele frequencies from next-generation sequencing data: pool-versus individual-based genotyping. *Mol Ecol*, 22(14):3766–3779.
- Gautier, M., Moazami-Goudarzi, K., Levéziel, H., Parinello, H., Grohs, C., Rialle, S., Kowalczyk, R., and Flori, L. (2016). Deciphering the wisent demographic and adaptive histories from individual whole-genome sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 33(11):2801–2814.

-
- Gautier, M., Yamaguchi, J., Foucaud, J., Loiseau, A., Ausset, A., Facon, B., Gschloessl, B., Lagnel, J., Loire, E., Parrinello, H., Severac, D., Lopez-Roques, C., Donnadieu, C., Manno, M., Berges, H., Gharbi, K., Lawson-Handley, L., Zang, L.-S., Vogel, H., Estoup, A., and Prud'homme, B. (2018). The genomic basis of color pattern polymorphism in the harlequin ladybird. *Curr. Biol.*, 28(20):3296–3302.e7.
- Gavrilets, S. and Scheiner, S. M. (1993). The genetics of phenotypic plasticity. V. Evolution of reaction norm shape. *Journal of Evolutionary Biology*, 6(1):31–48.
- Gelman, A., Carlin, J. B., Stern, H. S., and Rubin, D. B. (2003). *Bayesian Data Analysis, Second Edition*. CRC Press.
- Getty, T. (1996). The maintenance of phenotypic plasticity as a signal detection problem. *The American Naturalist*, 148(2):378–385.
- Ghalambor, C. K., McKay, J. K., Carroll, S. P., and Reznick, D. N. (2007). Adaptive *versus* non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology*, 21(3):394–407.
- Gilchrist, G. W., Huey, R. B., Balanyà, J., Pascual, M., and Serra, L. (2004). A time series of evolution in action: a latitudinal cline in wing size in South American *Drosophila subobscura*. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 58(4):768–780.
- Gilchrist, G. W. and Lee, C. E. (2007). All stressed out and nowhere to go: does evolvability limit adaptation in invasive species? *Genetica*, 129(2):127–132.
- Gillespie, J. (1974). The role of environmental grain in the maintenance of genetic variation. *The American Naturalist*, 108(964):831–836.
- Gompert, Z. and Messina, F. J. (2016). Genomic evidence that resource-based trade-offs limit host-range expansion in a seed beetle. *Evolution*, 70(6):1249–1264.
- Gomulkiewicz, R. and Holt, R. D. (1995). When does evolution by natural selection prevent extinction? *Evolution*, 49(1):201–207.
- González, J., Karasov, T. L., Messer, P. W., and Petrov, D. A. (2010). Genome-wide patterns of adaptation to temperate environments associated with transposable elements in *Drosophila*. *PLoS Genetics*, 6(4):33–35.
- González-Candelas, F., Ménsua, J. L., and Moya, A. (1990). Larval competition in *Drosophila melanogaster*: effects on development time. *Genetica*, 82(1):33–44.
- Gotoh, T., Bruin, J., Sabelis, M. W., and Menken, S. B. J. (1993). Host race formation in *Tetranychus urticae*: genetic differentiation, host plant preference, and mate choice in a tomato and a cucumber strain. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 68(2):171–178.
- Gotthard, K. and Nylin, S. (1995). Adaptive plasticity and plasticity as an adaptation: a selective review of plasticity in animal morphology and life history. *Oikos*, 74(1):3–17.
- Grant, P. R. and Grant, B. R. (1995). Predicting microevolutionary responses to directional selection on heritable variation. *Evolution*, 49(2):241–251.
- Grau, J., Grosse, I., and Keilwagen, J. (2015). PRROC: computing and visualizing precision-recall and receiver operating characteristic curves in R. *Bioinformatics*, 31(15):2595–2597.
- Green, P., Simmonds, M., and M. BLANEY, W. (2002). Does the size of larval groups influence the effect of metabolic inhibitors on the development of *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae) larvae? *European Journal of Entomology*, 99:19–22.
- Griffin, P. C., Hangartner, S. B., Fournier-Level, A., and Hoffmann, A. A. (2017). Genomic trajectories to

RÉFÉRENCES

- desiccation resistance: convergence and divergence among replicate selected *Drosophila* lines. *Genetics*, 205(2):871–890.
- Gripenberg, S., Mayhew, P. J., Parnell, M., and Roslin, T. (2010). A meta-analysis of preference-performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters*, 13(3):383–393.
- Groen, S. C. and Whiteman, N. K. (2016). Using *Drosophila* to study the evolution of herbivory and diet specialization. *Current Opinion in Insect Science*, 14:66–72.
- Guillot, G., Leblois, R., Coulon, A., and Frantz, A. C. (2009). Statistical methods in spatial genetics. *Molecular Ecology*, 18(23):4734–4756.
- Gundersen, G., Johannesen, E., Andreassen, H. P., and Ims, R. A. (2001). Source–sink dynamics: how sinks affect demography of sources. *Ecology Letters*, 4(1):14–21.
- Gunther, T. and Coop, G. (2013). Robust identification of local adaptation from allele frequencies. *Genetics*, 195(1):205–220.
- Haldane, J. B. S. and Ford, E. B. (1956). The theory of selection for melanism in *Lepidoptera*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B - Biological Sciences*, 145(920):303–306.
- Hansen, A. K. and Moran, N. A. (2014). The impact of microbial symbionts on host plant utilization by herbivorous insects. *Molecular Ecology*, 23(6):1473–1496.
- Hansen, M. M., Olivieri, I., Waller, D. M., and Nielsen, E. E. (2012). Monitoring adaptive genetic responses to environmental change. *Molecular Ecology*, 21(6):1311–1329.
- Hardin, J. A., Kraus, D. A., and Burrack, H. J. (2015). Diet quality mitigates intraspecific larval competition in *Drosophila suzukii*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 156(1):59–65.
- Hargeby, A., Johansson, J., and Ahnesjö, J. (2004). Habitat-specific pigmentation in a freshwater isopod: adaptive evolution over a small spatiotemporal scale. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 58(1):81–94.
- Harmand, N., Gallet, R., Martin, G., and Lenormand, T. (2018). Evolution of bacteria specialization along an antibiotic dose gradient. *Evolution Letters*, 2(3):221–232.
- Hartl, D. L. and Clark, A. G. (1997). *Principles of population genetics*. Sinauer Associates Inc.
- Hauffe, H. C. and Barelli, C. (2019). Conserve the germs: the gut microbiota and adaptive potential. *Conservation Genetics*, 20(1):19–27.
- Hauser, M. (2011). A historic account of the invasion of *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) in the continental United States, with remarks on their identification. *Pest Management Science*, 67(11):1352–1357.
- Hawkins, B. A., Cornell, H. V., and Hochberg, M. E. (1997). Predators, parasitoids, and pathogens as mortality agents in phytophagous insect populations. *Ecology*, 78(7):2145–2152.
- Hedrick, P. W. and Garcia-Dorado, A. (2016). Understanding inbreeding depression, purging, and genetic rescue. *Trends in Ecology & Evolution*, 31(12):940–952.
- Heffernan, J. M. and Wahl, L. M. (2002). The effects of genetic drift in experimental evolution. *Theoretical Population Biology*, 62(4):349–356.
- Hendry, A. P. and Kinnison, M. T. (1999). Perspective: the pace of modern life: measuring rates of contemporary microevolution. *Evolution*, 53(6):1637–1653.
- Hendry, A. P. and Kinnison, M. T. (2001). An introduction to microevolution: rate, pattern, process. *Genetica*, 112–113:1–8.
- Hereford, J. (2009). A quantitative survey of local adaptation and fitness trade-offs. *The American Naturalist*,

- Herman, J. J., Sultan, S. E., Horgan-Kobelski, T., and Riggs, C. (2012). Adaptive transgenerational plasticity in an annual plant: grandparental and parental drought stress enhance performance of seedlings in dry soil. *Integrative and Comparative Biology*, 52(1):77–88.
- Herrel, A., Huyghe, K., Vanhooydonck, B., Backeljau, T., Breugelmans, K., Grbac, I., Damme, R. V., and Irschick, D. J. (2008). Rapid large-scale evolutionary divergence in morphology and performance associated with exploitation of a different dietary resource. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(12):4792–4795.
- Himler, A. G., Adachi-Hagimori, T., Bergen, J. E., Kozuch, A., Kelly, S. E., Tabashnik, B. E., Chiel, E., Duckworth, V. E., Dennehy, T. J., Zchori-Fein, E., and Hunter, M. S. (2011). Rapid spread of a bacterial symbiont in an invasive whitefly is driven by fitness benefits and female bias. *Science*, 332(6026):254–256.
- Hivert, V., Leblois, R., Petit, E. J., Gautier, M., and Vitalis, R. (2018). Measuring genetic differentiation from pool-seq data. *Genetics*, 210(1):315–330.
- Ho, W.-C. and Zhang, J. (2018). Evolutionary adaptations to new environments generally reverse plastic phenotypic changes. *Nature Communications*, 9(1):350.
- Hoban, S., Kelley, J. L., Lotterhos, K. E., Antolin, M. F., Bradburd, G., Lowry, D. B., Poss, M. L., Reed, L. K., Storer, A., and Whitlock, M. C. (2016). Finding the genomic basis of local adaptation: pitfalls, practical solutions, and future directions. *The American Naturalist*, 188(4):379–397.
- Hoeksema, J. D. and Forde, S. E. (2008). A meta-analysis of factors affecting local adaptation between interacting species. *The American Naturalist*, 171(3):275–290.
- Hoffmann, A. A. and Weeks, A. R. (2006). Climatic selection on genes and traits after a 100 year-old invasion: a critical look at the temperate-tropical clines in *Drosophila melanogaster* from eastern Australia. *Genetica*, 129(2):133.
- Hoffmeister, T. S. and Rohlf, M. (2001). *Aggregative egg distributions may promote species co-existence – but why do they exist?* *Evolutionary Ecology Research* 3: 37–50.
- Holden, M. H., Ellner, S. P., Lee, D.-H., Nyrop, J. P., and Sanderson, J. P. (2012). Designing an effective trap cropping strategy: the effects of attraction, retention and plant spatial distribution. *Journal of Applied Ecology*, 49(3):715–722.
- Holeski, L. M., Jander, G., and Agrawal, A. A. (2012). Transgenerational defense induction and epigenetic inheritance in plants. *Trends in Ecology & Evolution*, 27(11):618–626.
- Holt, R. D. (1996). Adaptive evolution in source-sink environments: direct and indirect effects of density-dependence on niche evolution. *Oikos*, 75(2):182–192.
- Holt, R. D. (2009). Bringing the Hutchinsonian niche into the 21st century: ecological and evolutionary perspectives. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(Supplement_2):19659–19665.
- Holt, R. D. and Gomulkiewicz, R. (1997). How does immigration influence local adaptation? A reexamination of a familiar paradigm. *The American Naturalist*, 149(3):563–572.
- Hoskins, R. A., Carlson, J. W., Wan, K. H., Park, S., Mendez, I., Galle, S. E., Booth, B. W., Pfeiffer, B. D., George, R. A., Svirskas, R., Krzywinski, M., Schein, J., Accardo, M. C., Damia, E., Messina, G., Méndez-Lago, M., de Pablos, B., Demakova, O. V., Andreyeva, E. N., Boldyreva, L. V., Marra, M., Carvalho, A. B., Dimitri, P., Villasante, A., Zhimulev, I. F., Rubin, G. M., Karpen, G. H., and Celniker, S. E. (2015). The release 6 reference sequence of the *Drosophila melanogaster* genome. *Genome Res.*, 25(3):445–58.
- Houle, D., Morikawa, B., and Lynch, M. (1996). Comparing mutational variabilities. *Genetics*, 143(3):1467–

- 1483.
- Huang, X. and Renwick, J. a. A. (1993). Differential selection of host plants by two *Pieris* species: the role of oviposition stimulants and deterrents. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 68(1):59–69.
- Hufbauer, R. A., Facon, B., Ravigné, V., Turgeon, J., Foucaud, J., Lee, C. E., Rey, O., and Estoup, A. (2012). Anthropogenically induced adaptation to invade (AIAl): contemporary adaptation to human-altered habitats within the native range can promote invasions. *Evolutionary Applications*, 5(1):89–101.
- Ioriatti, C., Walton, V., Dalton, D., Anfora, G., Grassi, A., Maistri, S., and Mazzoni, V. (2015). *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) and its potential impact to wine grapes during harvest in two cool climate wine grape production regions. *Journal of Economic Entomology*, 108(3):1148–1155.
- Ives, A. R. (2019). R^2 for correlated data: phylogenetic models, LMMs, and GLMMs. *Systematic Biology*, 68(2):234–251.
- Jaenike, J. (1978). On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology*, 14(3):350–356.
- Jaenike, J. (1983). Induction of host preference in *Drosophila melanogaster*. *Oecologia*, 58(3):320–325.
- Jaenike, J. (1990). Host specialization in phytophagous insects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21(1):243–273.
- Jaenike, J. and Holt, R. D. (1991). Genetic variation for habitat preference: evidence and explanations. *The American Naturalist*, 137:S67–S90.
- Jaenike, J., Unckless, R., Cockburn, S. N., Boelio, L. M., and Perlman, S. J. (2010). Adaptation via symbiosis: recent spread of a *Drosophila* defensive symbiont. *Science (New York, N.Y.)*, 329(5988):212–215.
- Jallow, M. F. and Zalucki, M. P. (2003). Relationship between oviposition preference and offspring performance in Australian *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Australian Journal of Entomology*, 42(4):343–348.
- Jang, T. and Lee, K. P. (2018). Comparing the impacts of macronutrients on life-history traits in larval and adult *Drosophila melanogaster*: the use of nutritional geometry and chemically defined diets. *Journal of Experimental Biology*, 221(21):jeb181115.
- Janitz, M., Vanhecke, D., and Lehrach, H. (2006). High-throughput RNA interference in functional genomics. In Erdmann, V., Barciszewski, J., and Brosius, J., editors, *RNA Towards Medicine*, Handbook of Experimental Pharmacology, pages 97–104. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Janson, E. M., Stireman, J. O., Singer, M. S., and Abbot, P. (2008). Phytophagous insect–microbe mutualisms and adaptive evolutionary diversification. *Evolution*, 62(5):997–1012.
- Janz, N., Nyblom, K., and Nylin, S. (2001). Evolutionary dynamics of host-plant specialization: a case study of the tribe Nymphalini. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 55(4):783–796.
- Jaramillo, S. L., Mehlferber, E., and Moore, P. J. (2015). Life-history trade-offs under different larval diets in *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Physiological Entomology*, 40(1):2–9.
- Jasmin, J.-N. and Kassen, R. (2007). On the experimental evolution of specialization and diversity in heterogeneous environments. *Ecology Letters*, 10(4):272–281.
- Jeffreys, H. (1961). *Theory of probability*. Oxford University Press, 3rd edition.
- Jensen, K., McClure, C., Priest, N. K., and Hunt, J. (2015). Sex-specific effects of protein and carbohydrate intake on reproduction but not lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Aging Cell*, 14(4):605–615.
- Johansson, J. (2008). Evolutionary responses to environmental changes: how does competition affect adaptation? *Evolution*, 62(2):421–435.

-
- Jones, T. H., Langefors, A., Bonsall, M. B., and Hassell, M. P. (1996). Contest competition in *Drosophila subobscura*. *Researches on Population Ecology*, 1(38):105–110.
- Jong, G. D. (1999). Unpredictable selection in a structured population leads to local genetic differentiation in evolved reaction norms. *Journal of Evolutionary Biology*, 12(5):839–851.
- Joshi, A. and Thompson, J. N. (1995). Trade-offs and the evolution of host specialization. *Evolutionary Ecology*, 9(1):82–92.
- Kaneshiro, K. (1983). *Drosophila* (Sophophora) *suzukii* (Matsumura). *Proceedings of Hawaiian Entomological Society*, (24):179.
- Kankare, M., Salminen, T., Laiho, A., Vesala, L., and Hoikkala, A. (2010). Changes in gene expression linked with adult reproductive diapause in a northern malt fly species: a candidate gene microarray study. *BMC Ecol.*, 10:3.
- Kanzawa, T. (1936). Studies on *Drosophila suzukii* Matsumura. *J. Plant Prot.*, (23):66–70.
- Kanzawa, T. (1939). Studies on the fruit flies. Yamanashi-kenritsu Noji-shikenjo Gyomu-nenpo. *Review of Applied Entomology*, (29):622.
- Karageorgi, M., Bracker, L. B., Lebreton, S., Minervino, C., Cavey, M., Siju, K., Grunwald Kadow, I. C., Gompel, N., and Prud'homme, B. (2017). Evolution of multiple sensory systems drives novel egg-laying behavior in the fruit pest *Drosophila suzukii*. *Current Biology*, 27:847–853.
- Kass, R. E. and Raftery, A. E. (1995). Bayes Factors. *Journal of the American Statistical Association*, 90(430):773–795.
- Kassen, R. (2002). The experimental evolution of specialists, generalists, and the maintenance of diversity. *Journal of Evolutionary Biology*, 15:173–190.
- Kassen, R. and Bell, G. (1998). Experimental evolution in *Chlamydomonas*. IV. Selection in environments that vary through time at different scales. *Heredity*, 80(6):732–741.
- Kawecki, T. J. (1994). Accumulation of deleterious mutations and the evolutionary cost of being a generalist. *The American Naturalist*, 144(5):833–838.
- Kawecki, T. J. (1995). Demography of source-sink populations and the evolution of ecological niches. *Evolutionary Ecology*, 9(1):38–44.
- Kawecki, T. J., Barton, N. H., and Fry, J. D. (1997). Mutational collapse of fitness in marginal habitats and the evolution of ecological specialisation. *Journal of Evolutionary Biology*, 10(3):407–429.
- Kawecki, T. J. and Ebert, D. (2004). Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters*, 7(12):1225–1241.
- Kawecki, T. J., Lenski, R. E., Ebert, D., Hollis, B., Olivieri, I., and Whitlock, M. C. (2012). Experimental evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 27(10):547–560.
- Keane, R. M. and Crawley, M. J. (2002). Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(4):164–170.
- Keesey, I. W., Knaden, M., and Hansson, B. S. (2015). Olfactory specialization in *Drosophila suzukii* supports an ecological shift in host preference from rotten to fresh fruit. *Journal of Chemical Ecology*, 41(2):121–128.
- Keller, S. R. and Taylor, D. R. (2008). History, chance and adaptation during biological invasion: Separating stochastic phenotypic evolution from response to selection. *Ecology Letters*, 11(8):852–866.
- Keller, S. R. and Taylor, D. R. (2010). Genomic admixture increases fitness during a biological invasion. *Journal of Evolutionary Biology*, 23(8):1720–1731.
- Kelly, C. A. and Bowers, M. D. (2016). Preference and performance of generalist and specialist herbivores on

RÉFÉRENCES

- chemically defended host plants. *Ecological Entomology*, 41(3):308–316.
- Kelly, M. (2019). Adaptation to climate change through genetic accommodation and assimilation of plastic phenotypes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 374(1768):20180176.
- Kenis, M., Tonina, L., Eschen, R., van der Sluis, B., Sancassani, M., Mori, N., Haye, T., and Helsen, H. (2016). Non-crop plants used as hosts by *Drosophila suzukii* in Europe. *Journal of Pest Science*, 89(3):735–748.
- King, R. C. (1954). Studies with radiophosphorus in *Drosophila*. II. The turnover and distribution of phosphorus in adult *Drosophila*. *Journal of Experimental Zoology*, 125(2):331–352.
- King, R. C. and Wilson, L. P. (1955). Studies with radiophosphorus in *Drosophila*. V. The phosphorus balance of adult females. *Journal of Experimental Zoology*, 130(1):71–82.
- Kirkpatrick, D. M., McGhee, P. S., Gut, L. J., and Miller, J. R. (2017). Improving monitoring tools for spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 164(2):87–93.
- Kisdi, E. (2002). Dispersal: risk spreading versus local adaptation. *The American Naturalist*, 159(6):579–596.
- Kisdi, E. and Geritz, S. A. H. (1999). Adaptive dynamics in allele space: evolution of genetic polymorphism by small mutations in a heterogeneous environment. *Evolution*, 53(4):993–1008.
- Kitching, R. (1971). A simple simulation model of dispersal of animals among units of discrete habitats. *Oecologia*, 7(2):95–116.
- Koboldt, D. C., Zhang, Q., Larson, D. E., Shen, D., McLellan, M. D., Lin, L., Miller, C. A., Mardis, E. R., Ding, L., and Wilson, R. K. (2012). VarScan 2: somatic mutation and copy number alteration discovery in cancer by exome sequencing. *Genome Res.*, 22(3):568–76.
- Kolar, C. S. and Lodge, D. M. (2001). Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends in Ecology and Evolution*, 16(4):199–204.
- Kremmer, L., Thaon, M., Borowiec, N., David, J., Poirié, M., Gatti, J.-L., and Ris, N. (2017). Field monitoring of *Drosophila suzukii* and associated communities in south eastern france as a pre-requisite for classical biological control. *Insects*, 8(4):124.
- Kristensen, T. N., Overgaard, J., Loeschcke, V., and Mayntz, D. (2011). Dietary protein content affects evolution for body size, body fat and viability in *Drosophila melanogaster*. *Biology Letters*, 7(2):269–272.
- Lamy, M. (1990). Contact dermatitis (erucism) produced by processionary caterpillars (genus *Thaumetopoea*). *Journal of Applied Entomology*, 110(1-5):425–437.
- Lande, R. (1976). Natural selection and random genetic drift in phenotypic evolution. *Evolution*, (30):314–334.
- Lande, R. (1993). Risks of population extinction from demographic and environmental stochasticity and random catastrophes. *The American Naturalist*, 142(6):911–927.
- Lande, R. (2009). Adaptation to an extraordinary environment by evolution of phenotypic plasticity and genetic assimilation. *Journal of Evolutionary Biology*, 22(7):1435–1446.
- Lande, R. (2015). Evolution of phenotypic plasticity in colonizing species. *Molecular Ecology*, 24(9):2038–2045.
- Lande, R. and Arnold, S. J. (1983). The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*, 37(6):1210–1226.
- Lande, R. and Shannon, S. (1996). The role of genetic variation in adaptation and population persistence in a changing environment. *Evolution*, 50(1):434–437.
- Lasa, R., Tadeo, E., Dinorin, L. A., Lima, I., and Williams, T. (2017). Fruit firmness, superficial damage, and location modulate infestation by *Drosophila suzukii* and *Zaprionus indianus*: the case of guava in

-
- Veracruz, Mexico. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 162(1):4–12. WOS:000394783800002.
- Laukkanen, L., Leimu, R., Muola, A., Lilley, M., Salminen, J.-P., and Mutikainen, P. (2012). Plant chemistry and local adaptation of a specialized folivore. *PLOS ONE*, 7(5):e38225.
- Lavergne, S. and Molofsky, J. (2007). Increased genetic variation and evolutionary potential drive the success of an invasive grass. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(10):3883–3888.
- Lawton, J. H. (1979). Between the devil and the deep blue sea: on the problem of being a herbivore. *Population dynamics*, pages 223–244.
- Leach, H., Stone, J., Timmeren, S. V., and Isaacs, R. (2019). Stage-specific and seasonal induction of the overwintering morph of spotted wing drosophila (diptera: Drosophilidae). *J. Insect Sci.*, 19(4):accepted.
- Lee, C. E. (1999). Rapid and repeated invasions of fresh water by the copepod *Eurytemora affinis*. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 53(5):1423–1434.
- Lee, C. E. (2002). Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(8):386–391.
- Lee, C. E. and Gelembiuk, G. W. (2008). Evolutionary origins of invasive populations. *Evolutionary Applications*, 1(3):427–448.
- Lee, C. E., Kiergaard, M., Gelembiuk, G. W., Eads, B. D., and Posavi, M. (2011a). Pumping ions: rapid parallel evolution of ionic regulation following habitat invasions. *Evolution*, 65(8):2229–2244.
- Lee, C. E., Remfert, J. L., and Chang, Y.-M. (2007). Response to selection and evolvability of invasive populations. *Genetica*, 129(2):179–192.
- Lee, C. E., Remfert, J. L., and Gelembiuk, G. W. (2003). Evolution of physiological tolerance and performance during freshwater invasions. *Integrative and Comparative Biology*, 43(3):439–449.
- Lee, J. C., Bruck, D. J., Curry, H., Edwards, D., Haviland, D. R., Van Steenwyk, R. A., and Yorgey, B. M. (2011b). The susceptibility of small fruits and cherries to the spotted-wing drosophila, *Drosophila suzukii*. *Pest Management Science*, 67(11):1358–1367.
- Lee, J. C., Bruck, D. J., Dreves, A. J., Ioriatti, C., Vogt, H., and Baufeld, P. (2011c). In Focus: Spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*, across perspectives. *Pest Management Science*, 67(11):1349–1351.
- Lee, J. C., Dalton, D. T., Swoboda-Bhattarai, K. A., Bruck, D. J., Burrack, H. J., Strik, B. C., Woltz, J. M., and Walton, V. M. (2016). Characterization and manipulation of fruit susceptibility to *Drosophila suzukii*. *Journal of Pest Science*, 89(3):781–782.
- Lee, J. C., Dreves, A. J., Cave, A. M., Kawai, S., Isaacs, R., Miller, J. C., Timmeren, S. V., and Bruck, D. J. (2015). Infestation of wild and ornamental noncrop fruits by *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 108(2):117–129.
- Lee, J. C., Shearer, P. W., Barrantes, L. D., Beers, E. H., Burrack, H. J., Dalton, D. T., Dreves, A. J., Gut, L. J., Hamby, K. A., Haviland, D. R., Isaacs, R., Nielsen, A. L., Richardson, T., Rodriguez-Saona, C. R., Stanley, C. A., Walsh, D. B., Walton, V. M., Yee, W. L., Zalom, F. G., and Bruck, D. J. (2013). Trap designs for monitoring *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Environmental Entomology*, 42(6):1348–1355.
- Lee, S. F., Sgrò, C. M., Shirriffs, J., Wee, C. W., Rako, L., Heerwaarden, B. V., and Hoffmann, A. A. (2011d). Polymorphism in the couch potato gene clines in eastern Australia but is not associated with ovarian dormancy in *Drosophila melanogaster*. *Molecular Ecology*, 20(14):2973–2984.
- Legg, D. E., Schenk, T. C., and Chiang, H. C. (1986). European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) oviposition preference and survival on sunflower and corn. *Environmental Entomology*, 15(3):631–634.
- Legros, M. and Koella, J. C. (2010). Experimental evolution of specialization by a microsporidian parasite.

RÉFÉRENCES

- BMC Evolutionary Biology*, 10:159.
- Lenormand, T. (2002). Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(4):183–189.
- Lenormand, T. (2012). From local adaptation to speciation: specialization and reinforcement. *International Journal of Ecology*, 2012.
- Levine, J. M. and D'Antonio, C. M. (1999). Elton revisited: a review of evidence linking diversity and invasibility. *Oikos*, 87(1):15–26.
- Levins, R. (1962). Theory of fitness in a heterogeneous environment. I. The fitness set and adaptive function. *The American Naturalist*, 96(891):361–373.
- Levins, R. (1968). *Evolution in changing environments: some theoretical explorations*. Princeton University Press.
- Levins, R. and MacArthur, R. (1969). An hypothesis to explain the incidence of monophagy. *Ecology*, 50(5):910–911.
- Lewis, M. T. and Hamby, K. A. (2019). Differential impacts of yeasts on feeding behavior and development in larval *Drosophila suzukii* (Diptera:Drosophilidae). *Scientific Reports*, 9(1):1–12.
- Li, H. (2013). Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with bwa-mem. *arXiv*, 1303.3997.
- Li, H. and Durbin, R. (2009). Fast and accurate short read alignment with burrows-wheeler transform. *Bioinformatics*, 25(14):1754–60.
- Li, H., Handsaker, B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J., Homer, N., Marth, G., Abecasis, G., and Durbin, R. (2009). The sequence alignment/map format and samtools. *Bioinformatics*, 25(16):2078–9.
- Li, Y. F., Costello, J. C., Holloway, A. K., and Hahn, M. W. (2008). “Reverse ecology” and the power of population genomics. *Evolution*, 62(12):2984–2994.
- Lieten, P. (2013). Advances in strawberry substrate culture during the last twenty years in the Netherlands and Belgium. *International Journal of Fruit Science*, 13(1-2):84–90.
- Lihoreau, M., Poissonnier, L.-A., Isabel, G., and Dussutour, A. (2016). *Drosophila* females trade off good nutrition with high-quality oviposition sites when choosing foods. *Journal of Experimental Biology*, 219(16):2514–2524.
- Linder, C., Martin, C., Labois, S., G. Chatelain, P., and Kerhli, P. (2014). Susceptibility of various grape cultivars to *Drosophila suzukii* and other vinegar flies. *IOBC-WPRS Bulletin*, 105:219–224.
- Linz, J., Baschwitz, A., Strutz, A., Dweck, H. K. M., Sachse, S., Hansson, B. S., and Stensmyr, M. C. (2013). Host plant-driven sensory specialization in *Drosophila erecta*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1760):20130626.
- Little, C. M., Chapman, T. W., Moreau, D. L., and Hillier, N. K. (2017). Susceptibility of selected boreal fruits and berries to the invasive pest *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Pest Management Science*, 73(1):160–166.
- Little, T. J. and Ebert, D. (2000). The cause of parasitic infection in natural populations of *Daphnia* (Crustacea: Cladocera): the role of host genetics. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 267(1457):2037–2042.
- Liu, Q., Tomberlin, J. K., Brady, J. A., Sanford, M. R., and Yu, Z. (2008). Black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae reduce *Escherichia coli* in dairy manure. *Environmental Entomology*, 37(6):1525–1530.

-
- Liu, Z., Scheirs, J., and Heckel, D. G. (2012). Trade-offs of host use between generalist and specialist *Helicoverpa* sibling species: adult oviposition and larval performance. *Oecologia*, 168(2):459–469.
- Lively, C. M. (1986). Predator-induced shell dimorphism in the acorn barnacle *Chthamalus anisopoma*. *Evolution*, 40(2):232–242.
- Lock, J. E. (2012). Transgenerational effects of parent and grandparent gender on offspring development in a biparental beetle species. *Biology Letters*, 8(3):408–411.
- Lush, J. L. (1945). *Animal breeding plans*. Iowa State College Press.
- Lynch, M., Conery, J., and Burger, R. (1995). Mutation accumulation and the extinction of small populations. *American Naturalist*, 146(4):489–518.
- Mack, R. N., Simberloff, D., Lonsdale, W. M., Evans, H., Clout, M., and Bazzaz, F. A. (2000). Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications*, 10(3):689–710.
- Mackenzie, A. (1996). A trade-off for host plant utilization in the black bean aphid, *aphis fabae*. *Evolution*, 50(1):155–162.
- Magalhães, S., Blanchet, E., Egas, M., and Olivieri, I. (2009). Are adaptation costs necessary to build up a local adaptation pattern? *BMC Evolutionary Biology*, 9(1):182.
- Magalhães, S. and Matos, M. (2012). Strengths and weaknesses of experimental evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 27(12):649–650.
- Maharjan, R., Nilsson, S., Sung, J., Haynes, K., Beardmore, R. E., Hurst, L. D., Ferenci, T., and Gudelj, I. (2013). The form of a trade-off determines the response to competition. *Ecology Letters*, 16(10):1267–1276.
- Malause, T., Bethenod, M.-T., Bontemps, A., Bourguet, D., Cornuet, J.-M., and Ponsard, S. (2005). Assortative mating in sympatric host races of the european corn borer. *Science*, 308(5719):258–260.
- Malause, T., Dalecky, A., Ponsard, S., Audiot, P., Streiff, R., Chaval, Y., and Bourguet, D. (2007). Genetic structure and gene flow in French populations of two *Ostrinia* taxa : host races or sibling species? *Molecular Ecology*, 16(20):4210–4222.
- Markow, T. A. and O'Grady, P. (2008). Reproductive ecology of *Drosophila*. *Functional Ecology*, 22(5):747–759.
- Markow, T. A., Raphael, B., Dobberfuhl, D., Breitmeyer, C. M., Elser, J. J., and Pfeiler, E. (1999). Elemental stoichiometry of *Drosophila* and their hosts. *Functional Ecology*, 13(1):78–84.
- Martinez-Sañudo, I., Simonato, M., Squartini, A., Mori, N., Marri, L., and Mazzon, L. (2018). Metagenomic analysis reveals changes of the *Drosophila suzukii* microbiota in the newly colonized regions. *Insect Science*, 25(5):833–846.
- Mathews, C. R., Blaauw, B., Dively, G., Kotcon, J., Moore, J., Ogburn, E., Pfeiffer, D. G., Trope, T., Walgenbach, J. F., Welty, C., Zinati, G., and Nielsen, A. L. (2017). Evaluating a polyculture trap crop for organic management of *Halyomorpha halys* and native stink bugs in peppers. *Journal of Pest Science*, 90(4):1245–1255.
- Matsubayashi, K. W., Ohshima, I., and Nosil, P. (2010). Ecological speciation in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 134(1):1–27.
- Matsumura, S. (1931). *6000 illustrated insects of Japan-empire*.
- May, C. M., Doroszuk, A., and Zwaan, B. J. (2015). The effect of developmental nutrition on life span and fecundity depends on the adult reproductive environment in *Drosophila melanogaster*. *Ecology and Evolution*, 5(6):1156–1168.
- May, R. M. and Beverton, R. J. H. (1990). How many species? *Philosophical Transactions of the Royal Society*

RÉFÉRENCES

- of London. *Series B: Biological Sciences*, 330(1257):293–304.
- Mayhew, P. J. (1997). Adaptive patterns of host-plant selection by phytophagous insects. *Oikos*, 79(3):417–428.
- Mayhew, P. J. (2001). Herbivore host choice and optimal bad motherhood. *Trends in Ecology & Evolution*, 16(4):165–167.
- McBride, C. S. (2007). Rapid evolution of smell and taste receptor genes during host specialization in *Drosophila sechellia*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(12):4996–5001.
- McDonald, J. H. (2014). *Handbook of Biological Statistics (3rd ed.)*. Sparky House Publishing, Baltimore, Maryland.
- McKay, J. K. and Latta, R. G. (2002). Adaptive population divergence: markers, QTL and traits. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(6):285–291.
- McLain, D. K., Moulton, M. P., and Sanderson, J. G. (1999). Sexual selection and extinction: the fate of plumage- dimorphic and plumage-monomorphic birds introduced onto islands. page 17.
- Mery, F. and Kawecki, T. J. (2002). Experimental evolution of learning ability in fruit flies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(22):14274–14279.
- Messina, F. J. (1985). Insects on plants: community patterns and mechanisms. D. R. Strong, J. H. Lawton, Richard South-wood. *The Quarterly Review of Biology*, 60(2):239–239.
- Messina, F. J. and Durham, S. L. (2013). Adaptation to a novel host by a seed beetle (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae): effect of source population. *Environmental Entomology*, 42(4):733–742.
- Messina, F. J. and Durham, S. L. (2015). Loss of adaptation following reversion suggests trade-offs in host use by a seed beetle. *Journal of Evolutionary Biology*, 28(10):1882–1891.
- Messina, F. J., Mendenhall, M., and Jones, J. C. (2009). An experimentally induced host shift in a seed beetle. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 132(1):39–49.
- Miller, R. G. (1997). *Beyond ANOVA: basics of applied statistics*. Chapman and Hall/CRC.
- Miller, R. S. (1964). Larval competition in *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Ecology*, 45(1):132–148.
- Miller, T. A. (1986). *Insect plant interactions*. Springer Science+Business Media, springer edition.
- Mitsui, H., Takahashi, K. H., and Kimura, M. T. (2006). Spatial distributions and clutch sizes of *Drosophila* species ovipositing on cherry fruits of different stages. *Population Ecology*, 48(3):233–237.
- Moran, N. A. (1992). The evolutionary maintenance of alternative phenotypes. *The American Naturalist*, 139(5):971–989.
- Moran, N. A. (2007). Symbiosis as an adaptive process and source of phenotypic complexity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(suppl 1):8627–8633.
- Moravcová, L., Pyšek, P., Jarošík, V., and Pergl, J. (2015). Getting the right traits: reproductive and dispersal characteristics predict the invasiveness of herbaceous plant species. *PLOS ONE*, 10(4):e0123634.
- Moya, A. and Botella, L. M. (1985). Larva-to-adult and pupa-to-adult mortality dynamics in crowded cultures of *Drosophila melanogaster*. *Genetica*, 67(3):201–207.
- Mueller, L. D. and Ayala, F. J. (1981). Trade-off between r-selection and k-selection in *Drosophila* populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 78(2):1303–5.
- Nathan, R. (2001). The challenges of studying dispersal. *Trends in Ecology & Evolution*, 16(9):481–483.
- Nei, M., Maruyama, T., and Chakraborty, R. (1975). The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, 29(1):1–10.

-
- Nielsen, A. L., Dively, G., Pote, J. M., Zinati, G., and Mathews, C. (2016). Identifying a potential trap crop for a novel insect pest, *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae), in organic farms. *Environmental Entomology*, 45(2):472–478.
- Nielsen, E. S. and Mound, L. A. (2000). Global diversity of insects: the problems of estimating number. In *Nature and Human Society: The Quest for a Sustainable World*. National Academies.
- Nikolouli, K., Colinet, H., Renault, D., Enriquez, T., Mouton, L., Gibert, P., Sassu, F., Cáceres, C., Stauffer, C., Pereira, R., and Bourtzis, K. (2018). Sterile insect technique and *Wolbachia* symbiosis as potential tools for the control of the invasive species *Drosophila suzukii*. *Journal of Pest Science*, 91(2):489–503.
- Normark, B. B. and Johnson, N. A. (2011). Niche explosion. *Genetica*, 139(5):551–564.
- Nosil, P. (2002). Transition rates between specialization and generalization in phytophagous insects. *Evolution*, 56(8):1701–1706.
- Nosil, P. and Crespi, B. J. (2006). Experimental evidence that predation promotes divergence in adaptive radiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(24):9090–9095.
- Nouhaud, P., Gautier, M., Gouin, A., Jaquière, J., Peccoud, J., Legeai, F., Mieuzet, L., Smadja, C. M., Lemaitre, C., Vitalis, R., and Simon, J.-C. (2018). Identifying genomic hotspots of differentiation and candidate genes involved in the adaptive divergence of pea aphid host races. *Molecular Ecology*.
- Ochocki, B. M. and Miller, T. E. X. (2017). Rapid evolution of dispersal ability makes biological invasions faster and more variable. *Nature Communications*, 8(1):1–8.
- Odegaard, F., Diserud, O. H., Engen, S., and Aagaard, K. (2000). The magnitude of local host specificity for phytophagous insects and its implications for estimates of global species richness. *Conservation Biology*, 14(4):1182–1186.
- Olazcuaga, L., Rode, N. O., Foucaud, J., Facon, B., Ravigné, V., Ausset, A., Leménager, N., Loiseau, A., Gautier, M., Estoup, A., and Hufbauer, R. A. (2019a). Oviposition preference and larval performance of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae), spotted-wing drosophila: effects of fruit identity and composition. *Environmental Entomology*, 48(4):867–881.
- Olazcuaga, L., Rode, N. O., Foucaud, J., Gautier, M., Deschamps, C., Loiseau, A., Leménager, N., Facon, B., Ravigné, V., Hufbauer, R. A., and Estoup, A. (2019b). Evolution of trade-offs across environments following experimental evolution of the generalist *Drosophila suzukii* to different fruit media. *bioRxiv*, page 749945.
- Ometto, L., Cestaro, A., Ramasamy, S., Grassi, A., Revadi, S., Siozios, S., Moretto, M., Fontana, P., Varotto, C., Pisani, D., Dekker, T., Wrobel, N., Viola, R., Pertot, I., Cavalieri, D., Blaxter, M., Anfora, G., and Rota-Stabelli, O. (2013). Linking genomics and ecology to investigate the complex evolution of an invasive *Drosophila* pest. *Genome biology and evolution*, 5(4):745–757.
- Osnas, E. E. and Lively, C. M. (2004). Parasite dose, prevalence of infection and local adaptation in a host–parasite system. *Parasitology*, 128(2):223–228.
- O’Hara, R. and Kotze, D. (2010). Do not log-transform count data. *Methods in Ecology and Evolution*, 1(2):118–122.
- Pajac Zivkovic, I., Lemic, D., Mesic, A., Baric, B., Ordenes, R., and Benitez, H. A. (2018). Effect of fruit host on wing morphology in *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): A first view using geometric morphometrics. *Entomological Research*, 48(4):262–268. WOS:000439997400003.
- Panel, A. D. C., Zeeman, L., van der Sluis, B. J., van Elk, P., Pannebakker, B. A., Wertheim, B., and Helsen, H. H. M. (2018). Overwintered *Drosophila suzukii* are the main source for infestations of the first fruit crops of the season. *Insects*, 9(4).

RÉFÉRENCES

- Panov, V. E., Krylov, P. I., and Riccardi, N. (2004). Role of diapause in dispersal and invasion success by aquatic invertebrates. *Journal of Limnology*, 63(1s):56.
- Papaj, D. R. and Rausher, M. D. (1983). Chap 3. Individual variation in host location by phytophagous insects. In *Herbivorous Insects: Host-seeking Behavior and mechanisms*. Elsevier. Google-Books-ID: 032J9dwK1NQC.
- Pappert, R. A., Hamrick, J. L., and Donovan, L. A. (2000). Genetic variation in *Pueraria lobata* (Fabaceae), an introduced, clonal, invasive plant of the southeastern United States. *American Journal of Botany*, 87(9):1240–1245.
- Parker, J. D., Torchin, M. E., Hufbauer, R. A., Lemoine, N. P., Alba, C., Blumenthal, D. M., Bossdorf, O., Byers, J. E., Dunn, A. M., Heckman, R. W., Hejda, M., Jarošík, V., Kanarek, A. R., Martin, L. B., Perkins, S. E., Pyšek, P., Schierenbeck, K., Schlöder, C., Klinken, R. v., Vaughn, K. J., Williams, W., and Wolfe, L. M. (2013). Do invasive species perform better in their new ranges? *Ecology*, 94(5):985–994.
- Pavlidis, P., Jensen, J. D., Stephan, W., and Stamatakis, A. (2012). A critical assessment of storytelling: gene ontology categories and the importance of validating genomic scans. *Molecular Biology and Evolution*, 29(10):3237–3248.
- Peccoud, J., Ollivier, A., Plantegenest, M., and Simon, J.-C. (2009). A continuum of genetic divergence from sympatric host races to species in the pea aphid complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(18):7495–7500.
- Pelton, E., Gratton, C., Isaacs, R., Van Timmeren, S., Blanton, A., and Guédot, C. (2016). Earlier activity of *Drosophila suzukii* in high woodland landscapes but relative abundance is unaffected. *Journal of Pest Science*, 89(3):725–733.
- Peng, B. and Kimmel, M. (2005). simupop: a forward-time population genetics simulation environment. *Bioinformatics*, 21(18):3686–3687.
- Pfennig, D. W., Wund, M. A., Snell-Rood, E. C., Cruickshank, T., Schlichting, C. D., and Moczek, A. P. (2010). Phenotypic plasticity's impacts on diversification and speciation. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(8):459–467.
- Phillips, B. and Shine, R. (2007). When dinner is dangerous: toxic frogs elicit species-specific responses from a generalist snake predator. *The American Naturalist*, 170(6):936–942.
- Phillips, B. L., Brown, G. P., Webb, J. K., and Shine, R. (2006). Invasion and the evolution of speed in toads. *Nature*, 439(7078):803–803.
- Pickrell, J. K. and Pritchard, J. K. (2012). Inference of population splits and mixtures from genome-wide allele frequency data. *PLoS Genet.*, 8(11):e1002967.
- Pigliucci, M. (2001). *Phenotypic plasticity: beyond nature and nurture*. JHU Press.
- Poisot, T., Bever, J. D., Nemri, A., Thrall, P. H., and Hochberg, M. E. (2011). A conceptual framework for the evolution of ecological specialisation. *Ecology Letters*, 14(9):841–851.
- Poisot, T., Kéfi, S., Morand, S., Stanko, M., Marquet, P. A., and Hochberg, M. E. (2015). A continuum of specialists and generalists in empirical communities. *PLoS ONE*, 10(5):1–12.
- Poore, A. G. B. and Steinberg, P. D. (1999). Preference-performance relationships and effects of host plant choice in an herbivorous marine amphipod. *Ecological Monographs*, 69(4):443–464.
- Poyet, M., Le Roux, V., Gibert, P., Meirland, A., Prevost, G., Eslin, P., and Chabrerrie, O. (2015). The wide potential trophic niche of the asiatic fruit fly *Drosophila suzukii*: The key of its invasion success in temperate Europe? *PLoS ONE*, 10(11).

-
- Price, P. W., Bouton, C. E., Gross, P., Mcpherson, B. A., Thompson, J. N., Weis, A. E., and Price, P. W. (1980). Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Source: Annual Review of Ecology and Systematics*, 11:240-258(1980):41–65.
- Price, P. W., Westoby, M., Rice, B., Atsatt, P. R., Fritz, R. S., Thompson, J. N., and Mobley, K. (1986). Parasite mediation in ecological interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17(1):487–505.
- Price, T. D., Qvarnström, A., and Irwin, D. E. (2003). The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1523):1433–1440.
- Pulliam, H. R. (1988). Sources, sinks, and population regulation. *The American Naturalist*, 132(5):652–661.
- Puzey, J. and Vallejo-Marin, M. (2014). Genomics of invasion: diversity and selection in introduced populations of monkeyflowers (*Mimulus guttatus*). *Mol. Ecol.*, 23(18):4472–85.
- R Core Team (2014). R: A language environment for statistical computing.
- Rand, D. M., Weinreich, D. M., Lerman, D., Folk, D., and Gilchrist, G. W. (2010). Three selections are better than one: clinal variation of thermal QTL from independent selection experiments in *Drosophila*. *Evolution*, 64(10):2921–2934.
- Rasanen, K. and Hendry, A. P. (2008). Disentangling interactions between adaptive divergence and gene flow when ecology drives diversification. *Ecology Letters*, 11(6):624–636.
- Ravigné, V., Dieckmann, U., and Olivieri, I. (2009). Live where you thrive: joint evolution of habitat choice and local adaptation facilitates specialization and promotes diversity. *The American Naturalist*, 174(4):E141–E169.
- Reboud, X. and Bell, G. (1997). Experimental evolution in *Chlamydomonas*. III. Evolution of specialist and generalist types in environments that vary in space and time. *Heredity*, 78(5):507–514.
- Reboud, X. and Sicard, D. (2016). Chap 19. Evolution expérimentale. In *Biologie évolutive*. De Boeck Supérieur. Google-Books-ID: 0MFEDQAAQBAJ.
- Reed, L. K., Nyboer, M., and Markow, T. A. (2007). Evolutionary relationships of *Drosophila mojavensis* geographic host races and their sister species *Drosophila arizonae*. *Molecular Ecology*, 16(5):1007–1022.
- Reed, T. E., Waples, R. S., Schindler, D. E., Hard, J. J., and Kinnison, M. T. (2010). Phenotypic plasticity and population viability: the importance of environmental predictability. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1699):3391–3400.
- Refoyo-Martinez, A., da Fonseca, R. R., Halldórsdóttir, K., Arnason, E., Mailund, T., and Racimo, F. (2019). Identifying loci under positive selection in complex population histories. *Genome Res.*, 29(9):1506–1520.
- Rehage, J. S., Barnett, B. K., and Sih, A. (2005). Foraging behaviour and invasiveness: do invasive *Gambusia* exhibit higher feeding rates and broader diets than their noninvasive relatives? *Ecology of Freshwater Fish*, 14(4):352–360.
- Rendon, D., Buser, J., Tait, G., Lee, J. C., and Walton, V. M. (2018). Survival and fecundity parameters of two *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) morphs on variable diet under suboptimal temperatures. *Journal of Insect Science*, 18(6).
- Rendon, D., Walton, V., Tait, G., Buser, J., Souza, I. L., Wallingford, A., Loeb, G., and Lee, J. (2019). Interactions among morphotype, nutrition, and temperature impact fitness of an invasive fly. *Ecology and Evolution*, 9(5):2615–2628.
- Renkema, J. M., Buitenhuis, R., and Hallett, R. H. (2014). Optimizing trap design and trapping protocols for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Economic Entomology*, 107(6):2107–2118.
- Reznick, D. N. (1997). Evaluation of the rate of evolution in natural populations of guppies (*Poecilia*

RÉFÉRENCES

- reticulata*). *Science*, 275(5308):1934–1937.
- Reznick, D. N. and Ghalambor, C. K. (2001). The population ecology of contemporary adaptations: What empirical studies reveal about the conditions that promote adaptive evolution. *Genetica*, 112(1):183–198.
- Reznick, D. N., Losos, J., and Travis, J. (2019). From low to high gear: there has been a paradigm shift in our understanding of evolution. *Ecol. Lett.*, 22(2):233–244.
- Richardson, D. M., Pysek, P., Rejmánek, M., Barbour, M. G., Panetta, F. D., and West, C. J. (2000). Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and Distributions*, page 15.
- Rivers, D. and Dahlem, G. (2013). *The Science of Forensic Entomology*. John Wiley & Sons. Google-Books-ID: qwsqnwEACAAJ.
- Roberts, D. B. (2018). *Drosophila melanogaster*: the model organism. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, pages 93–103.
- Robinson, B. W. and Dukas, R. (1999). The influence of phenotypic modifications on evolution: the Baldwin effect and modern perspectives. *Oikos*, 85(3):582–589.
- Robinson, G. E., Hackett, K. J., Purcell-Miramontes, M., Brown, S. J., Evans, J. D., Goldsmith, M. R., Lawson, D., Okamuro, J., Robertson, H. M., and Schneider, D. J. (2011). Creating a buzz about insect genomes. *Science*, 331(6023):1386–1386.
- Rodrigues, M. A., Martins, N. E., Balancé, L. F., Broom, L. N., Dias, A. J. S., Fernandes, A. S. D., Rodrigues, F., Sucena, E., and Mirth, C. K. (2015). *Drosophila melanogaster* larvae make nutritional choices that minimize developmental time. *Journal of Insect Physiology*, 81:69–80.
- Roesti, M., Kueng, B., Moser, D., and Berner, D. (2015). The genomics of ecological vicariance in threespine stickleback fish. *Nat Commun*, 6:8767.
- Roff, D. (1977). Dispersal in dipterans: its costs and consequences. *Journal of Animal Ecology*, 46(2):443–456.
- Roff, D. (1997). *Evolutionary quantitative genetics*. Springer US.
- Rogers, M. A., Burkness, E. C., and Hutchison, W. D. (2016). Special issue of spotted wing drosophila. *Journal of Pest Science*, 89(3):851–851.
- Roman, J. and Darling, J. A. (2007). Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(9):454–464.
- Ronce, O. (2007). How does it feel to be like a rolling stone? Ten questions about dispersal evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 38(1):231–253.
- Ronce, O. and Kirkpatrick, M. (2001). When sources become sinks: migrational meltdown in heterogeneous habitats. *Evolution*, 55(8):1520–1531.
- Roslin, T. and Salminen, J. P. (2008). Specialization pays off: Contrasting effects of two types of tannins on oak specialist and generalist moth species. *Oikos*, 117(10):1560–1568.
- Rota-Stabelli, O., Blaxter, M., and Anfora, G. (2013). *Drosophila suzukii*. *Current Biology*, 23(1):R8–R9.
- Roughgarden, J. (1971). Density-dependent natural selection. *Ecology*, 52(3):453–468.
- Royes, W. V. and Robertson, F. W. (1964). The nutritional requirements and growth relations of different species of *Drosophila*. *Journal of Experimental Zoology*, 156(1):105–135.
- Ruesink, J. L. (2005). Global analysis of factors affecting the outcome of freshwater fish introductions. *Conservation Biology*, 19(6):1883–1893.

-
- Rundle, H. D., Chenoweth, S. F., Doughty, P., and Blows, M. W. (2005). Divergent selection and the evolution of signal traits and mating preferences. *PLOS Biology*, 3(11):e368.
- Ryan, G. D., Emiljanowicz, L., Wilkinson, F., Kornya, M., and Newman, J. A. (2016). Thermal tolerances of the spotted-wing drosophila *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Economic Entomology*, 109(2):746–752.
- Sakai, A. K., Allendorf, F. W., Holt, J. S., Lodge, D. M., Molofsky, J., With, K. A., Baughman, S., Cabin, R. J., Cohen, J. E., Ellstrand, N. C., McCauley, D. E., O’Neil, P., Parker, I. M., Thompson, J. N., and Weller, S. G. (2001). The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 32(1):305–332.
- Sarkar, S. C., Wang, E., Wu, S., and Lei, Z. (2018). Application of trap cropping as companion plants for the management of agricultural pests: a review. *Insects*, 9(4):128.
- Sasaki, M. and Sato, R. (1995). Bionomics of the cherry drosophila, *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae) in Fukushima Prefecture [Japan], 3: Life cycle. *Annual Report of the Society of Plant Protection of North Japan (Japan)*.
- Scheiner, S. M. (1993). Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24(1):35–68.
- Scheiner, S. M. (2016). Habitat choice and temporal variation alter the balance between adaptation by genetic differentiation, a jack-of-all-trades strategy, and phenotypic plasticity. *The American Naturalist*, 187(5):633–646.
- Scheirs Jan, Bruyn Luc De, and Verhagen Ronald (2000). Optimization of adult performance determines host choice in a grass miner. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 267(1457):2065–2069.
- Schlichting, C. D. (1986). The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17(1):667–693.
- Schlotterer, C., Tobler, R., Kofler, R., and Nolte, V. (2014). Sequencing pools of individuals - mining genome-wide polymorphism data without big funding. *Nat Rev Genet*, 15(11):749–763.
- Schmid, B. (1992). Phenotypic variation in plants. *Evolutionary trends in plants*, 6(1):45–60.
- Schmidt, J. M., Whitehouse, T. S., Green, K., Krehenwinkel, H., Schmidt-Jeffris, R., and Sial, A. A. (2019). Local and landscape-scale heterogeneity shape spotted wing drosophila (*Drosophila suzukii*) activity and natural enemy abundance: implications for trophic interactions. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 272:86–94.
- Schmidt, P. S., Matzkin, L., Ippolito, M., and Eanes, W. F. (2005). Geographic variation in diapause incidence, life-history traits, and climatic adaptation in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 59(8):1721–1732.
- Schmidt, P. S. and Paaby, A. B. (2008). Reproductive diapause and life-history clines in north American populations of *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 62(5):1204–1215.
- Schmidt, P. S., Zhu, C.-T., Das, J., Batavia, M., Yang, L., and Eanes, W. F. (2008). An amino acid polymorphism in the couch potato gene forms the basis for climatic adaptation in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(42):16207–16211.
- Schoonhoven, L. M., Loon, J. J. A. v., and Dicke, M. (2005). *Insect-plant biology*. Oxford University Press, Oxford, New York, second edition edition.
- Schulte, U., Veith, M., Mingo, V., Modica, C., and Hochkirch, A. (2013). Strong genetic differentiation due to multiple founder events during a recent range expansion of an introduced wall lizard population.

RÉFÉRENCES

- Biological Invasions*, 15(12):2639–2649.
- Schäpers, A., Nylin, S., Carlsson, M. A., and Janz, N. (2016). Specialist and generalist oviposition strategies in butterflies: maternal care or precocious young? *Oecologia*, 180(2):335–343.
- Shama, L. N. S. and Wegner, K. M. (2014). Grandparental effects in marine sticklebacks: transgenerational plasticity across multiple generations. *Journal of Evolutionary Biology*, 27(11):2297–2307.
- Shearer, P. W., West, J. D., Walton, V. M., Brown, P. H., Svetec, N., and Chiu, J. C. (2016). Seasonal cues induce phenotypic plasticity of *Drosophila suzukii* to enhance winter survival. *BMC ecology*, 16(1):11–11.
- Shine, C. and Williams, N. (2000). *A guide to designing legal and institutional frameworks on alien invasive species*. IUCN.
- Sicard, D., Pennings, P. S., Grandclément, C., Acosta, J., Kaltz, O., and Shykoff, J. A. (2007). Specialization and local adaptation of a fungal parasite on two host plant species as revealed by two fitness traits. *Evolution*, 61(1):27–41.
- Silva-Soares, N. F., Nogueira-Alves, A., Baldade, P., and Mirth, C. (2017). Adaptation to new nutritional environments: larval performance, foraging decisions, and adult oviposition choices in *Drosophila suzukii*. *BMC Ecology*, pages 1–13.
- Simon, J.-C., Carré, S., Boutin, M., Prunier-Leterme, N., Sabater-Mun, B., Latorre, A., and Bournoville, R. (2003). Host-based divergence in populations of the pea aphid: insights from nuclear markers and the prevalence of facultative symbionts. *Proceedings. Biological Sciences*, 270(1525):1703–1712.
- Simon, J.-C., d'Alençon, E., Guy, E., Jacquin-Joly, E., Jaquiéry, J., Nouhaud, P., Peccoud, J., Sugio, A., and Streiff, R. (2015). Genomics of adaptation to host-plants in herbivorous insects. *Briefings in Functional Genomics*, 14(6):413–423.
- Simpson, S. J., Clissold, F. J., Lihoreau, M., Ponton, E., Wilder, S. M., and Raubenheimer, D. (2015a). Recent advances in the integrative nutrition of arthropods. *Annual Review of Entomology*, 60:293–311.
- Simpson, S. J., Le Couteur, D. G., and Raubenheimer, D. (2015b). Putting the balance back in diet. *Cell*, 161(1):18–23.
- Singer, M. C., Ng, D., and Thomas, C. D. (1988). Heritability of oviposition preference and its relationship to offspring performance within a single insect population. *Evolution*, 42(5):977–985.
- Smiley, J. (1978). Plant chemistry and the evolution of host specificity: new evidence from *Heliconius* and *Passiflora*. *Science (New York, N.Y.)*, 201(4357):745–747.
- Snell-Rood, E. C. (2013). An overview of the evolutionary causes and consequences of behavioural plasticity. *Animal Behaviour*, 85(5):1004–1011.
- Sol, D. (2016). Progresses and controversies in invasion biology. In Mateo, R., Arroyo, B., and Garcia, J. T., editors, *Current Trends in Wildlife Research*, Wildlife Research Monographs, pages 177–200. Springer International Publishing, Cham.
- Soo Hoo, C. F. and Fraenkel, G. (1966). The selection of food plants in a polyphagous insect, *Prodenia eridania* (Cramer). *Journal of Insect Physiology*, 12(6):693–709.
- Sotka, E. E., Baumgardner, A. W., Bippus, P. M., Destombe, C., Duermit, E. A., Endo, H., Flanagan, B. A., Kamiya, M., Lees, L. E., Murren, C. J., Nakaoka, M., Shainker, S. J., Strand, A. E., Terada, R., Valero, M., Weinberger, F., and Krueger-Hadfield, S. A. (2018). Combining niche shift and population genetic analyses predicts rapid phenotypic evolution during invasion. *Evolutionary Applications*, 11(5):781–793.
- Sprengelmeyer, Q. D., Mansourian, S., Lange, J. D., Matute, D. R., Cooper, B. S., Jirle, E. V., Stensmyr, M. C., and Pool, J. E. (2018). Discovery of *Drosophila melanogaster* from wild african environments and

-
- genomic insights into species history. *bioRxiv*, page 470765.
- Stastny, M., Battisti, A., Petrucco-Toffolo, E., Schlyter, F., and Larsson, S. (2006). Host-plant use in the range expansion of the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa*. *Ecological Entomology*, 31(5):481–490.
- Stearns, S. C. (1989). Evolution in life-history trade-offs. *Functional Ecology*, 3:259–268.
- Steffan, S. A., Lee, J. C., Singleton, M. E., Vilaire, A., Walsh, D. B., Lavine, L. S., and Patten, K. (2013). Susceptibility of cranberries to *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Economic Entomology*, 106(6):2424–2427.
- Stockton, D. G., Pescitelli, L. E., Ebert, T. A., Martini, X., and Stelinski, L. L. (2017). Induced preference improves offspring fitness in a phytopathogen vector. *Environmental Entomology*, 46(5):1090–1097.
- Storey, J. D. and Tibshirani, R. (2003). Statistical significance for genomewide studies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100(16):9440–5.
- Stuart, Y. E., Campbell, T. S., Hohenlohe, P. A., Reynolds, R. G., Revell, L. J., and Losos, J. B. (2014). Rapid evolution of a native species following invasion by a congener. *Science*, 346(6208):463–466.
- Suiter, A. M., Bänziger, O., and Dean, A. M. (2003). Fitness consequences of a regulatory polymorphism in a seasonal environment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(22):12782–12786.
- Sylla, S., Brévault, T., Monticelli, L. S., Diarra, K., and Desneux, N. (2019). Geographic variation of host preference by the invasive tomato leaf miner *Tuta absoluta*: implications for host range expansion. *Journal of Pest Science*, 92(4):1387–1396.
- Szűcs, M., Vercken, E., Bitume, E. V., and Hufbauer, R. A. (2019). The implications of rapid eco-evolutionary processes for biological control - a review. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 167(7):598–615.
- Tack, A. J. M. and Roslin, T. (2010). Overrun by the neighbors: landscape context affects strength and sign of local adaptation. *Ecology*, 91(8):2253–2260.
- Tait, G., Grassi, A., Pfab, F., Crava, C. M., Dalton, D. T., Magarey, R., Ometto, L., Vezzulli, S., Rossi-Stacconi, M. V., Gottardello, A., Pugliese, A., Firrao, G., Walton, V. M., and Anfora, G. (2018). Large-scale spatial dynamics of *Drosophila suzukii* in Trentino, Italy. *Journal of Pest Science*, 91(4):1213–1224.
- Tayeh, A., Hufbauer, R. a., Estoup, A., Ravigne, V., Frachon, L., and Facon, B. (2015). Biological invasion and biological control select for different life histories. *Nature communications*, pages In press–In press.
- Taylor, C. M. and Hastings, A. (2005). Allee effects in biological invasions. *Ecology Letters*, 8(8):895–908.
- Teotónio, H., Estes, S., Phillips, P. C., and Baer, C. F. (2017). Experimental evolution with *Caenorhabditis* Nematodes. *Genetics*, 206(2):691–716.
- Therneau, T. M. (2018). Package ‘survival’.
- Thioulouse, J., Chessel, D., Doledec, S., and Olivier, J.-M. (1997). ADE-4: a multivariate analysis and graphical display software. *Statistics and Computing*, 7(1):75–83.
- Thomas, C. D., Cameron, A., Green, R. E., Bakkenes, M., Beaumont, L. J., Collingham, Y. C., Erasmus, B. F. N., Siqueira, M. F. d., Grainger, A., Hannah, L., Hughes, L., Huntley, B., Jaarsveld, A. S. v., Midgley, G. E., Miles, L., Ortega-Huerta, M. A., Peterson, A. T., Phillips, O. L., and Williams, S. E. (2004). Extinction risk from climate change. *Nature*, 427(6970):145–148.
- Thomas, F., Lefèvre, T., and Raymond, M. (2010). *Biologie évolutive*. De Boeck supérieur.
- Thomas, F. M., Blank, R., and Hartmann, G. (2002). Abiotic and biotic factors and their interactions as causes of oak decline in Central Europe. *Forest Pathology*, 32(4-5):277–307.

RÉFÉRENCES

- Thompson, J. N. (1988). Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 47(1):3–14.
- Thompson, J. N. (1998a). The evolution of diet breadth: monophagy and polyphagy in swallowtail butterflies. *Journal of Evolutionary Biology*, 11(5):563–578.
- Thompson, J. N. (1998b). Rapid evolution as an ecological process. *Trends in Ecology & Evolution*, 13(8):329–332.
- Thompson, J. N. and Pellmyr, O. (1991). Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, 36(1):65–89.
- Tochen, S., Dalton, D. T., Wiman, N., Hamm, C., Shearer, P. W., and Walton, V. M. (2014). Temperature-related development and population parameters for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on cherry and blueberry. *Environmental Entomology*, 43(2):501–510.
- Toxopeus, J., Jakobs, R., Ferguson, L. V., Gariepy, T. D., and Sinclair, B. J. (2016). Reproductive arrest and stress resistance in winter-acclimated *Drosophila suzukii*. *Journal of Insect Physiology*, 89:37–51.
- Travisano, M. and Lenski, R. E. (1996). Long-term experimental evolution in *Escherichia coli*. IV. Targets of selection and the specificity of adaptation. *Genetics*, 143(1):15–26.
- Tsutsui, N. D., Suarez, A. V., Holway, D. A., and Case, T. J. (2000). Reduced genetic variation and the success of an invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(11):5948–5953.
- Tu, M.-P. and Tatar, M. (2003). Juvenile diet restriction and the aging and reproduction of adult *Drosophila melanogaster*. *Aging Cell*, 2(6):327–333.
- Tufto, J. (2000). The evolution of plasticity and nonplastic spatial and temporal adaptations in the presence of imperfect environmental cues. *The American Naturalist*, 156(2):121–130.
- Tufto, J. (2015). Genetic evolution, plasticity, and bet-hedging as adaptive responses to temporally autocorrelated fluctuating selection: A quantitative genetic model: evolutionary responses to fluctuating selection. *Evolution*, 69(8):2034–2049.
- Turesson, G. (1922). The genotypical response of the plant species to the habitat. *Hereditas*, 3(3):211–350.
- Turner, T. L., Stewart, A. D., Fields, A. T., Rice, W. R., and Tarone, A. M. (2011). Population-based resequencing of experimentally evolved populations reveals the genetic basis of body size variation in *Drosophila melanogaster*. *PLOS Genetics*, 7(3):e1001336.
- Vacas, S., Primo, J., Manclus, J. J., Montoya, A., and Navarro-Llopis, V. (2019). Survey on *Drosophila suzukii* natural short-term dispersal capacities using the Mark-Release-Recapture technique. *Insects*, 10(9).
- Vacek, D. C., East, P. D., Barker, J. S. F., and Soliman, M. H. (1985). Feeding and oviposition preferences of *Drosophila buzzatii* for microbial species isolated from its natural environment. *Biological Journal of the Linnean Society*, 24(2):175–187.
- Valladares, G. and Lawton, J. H. (1991). Host-plant selection in the holly leaf-miner: Does mother know best? *Journal of Animal Ecology*, 60(1):227–240.
- Valéry, L., Fritz, H., Lefeuvre, J.-C., and Simberloff, D. (2008). In search of a real definition of the biological invasion phenomenon itself. *Biological Invasions*, 10(8):1345–1351.
- Van Buskirk, J. and Steiner, U. K. (2009). The fitness costs of developmental canalization and plasticity. *Journal of Evolutionary Biology*, 22(4):852–860.
- Van't Hof, A. E., Campagne, P., Rigden, D. J., Yung, C. J., Lingley, J., Quail, M. A., Hall, N., Darby, A. C., and Saccheri, I. J. (2016). The industrial melanism mutation in British peppered moths is a transposable

-
- element. *Nature*, 534(7605):102–105.
- Vazquez, D. P. (2006). Exploring the relationship between niche breadth and invasion success. In Cadotte, M. W., McMahon, S. M., and Fukami, T., editors, *Conceptual ecology and invasion biology: reciprocal approaches to nature*, pages 307–322. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Veltman, C. J., Nee, S., and Crawley, M. J. (1996). Correlates of introduction success in exotic new zealand birds. *The American Naturalist*, 147(4):542–557.
- Venail, P. A., Kaltz, O., Olivieri, I., Pommier, T., and Mouquet, N. (2011). Diversification in temporally heterogeneous environments: effect of the grain in experimental bacterial populations. *Journal of Evolutionary Biology*, 24(11):2485–2495.
- Via, S. (1990). Ecological genetics and host adaptation in herbivorous insects: the experimental study of evolution in natural and agricultural systems. *Annual Review of Entomology*, 35(1):421–446.
- Via, S., Bouck, A. C., and Skillman, S. (2000). Reproductive isolation between divergent races of pea aphids on two hosts. II. Selection against migrants and hybrids in the parental environments. *Evolution*, 54(5):1626–1637.
- Via, S. and Hawthorne, D. D. J. (2002). The genetic architecture of ecological specialization: correlated gene effects on host use and habitat choice in pea aphids. *The American Naturalist*, 159(march):76–88.
- Via, S. and Lande, R. (1985). Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution*, 39(3):505–522.
- Visser, J. H. (1988). Host-plant finding by insects: Orientation, sensory input and search patterns. *Journal of Insect Physiology*, 34(3):259–268.
- Waddington, C. H. (1961). Genetic Assimilation. In Caspari, E. W. and Thoday, J. M., editors, *Advances in Genetics*, volume 10, pages 257–293. Academic Press.
- Wagner, N. K., Ochocki, B. M., Crawford, K. M., Compagnoni, A., and Miller, T. E. X. (2017). Genetic mixture of multiple source populations accelerates invasive range expansion. *The Journal of animal ecology*, 86(1):21–34.
- Wallingford, A. K., Rice, K. B., Leskey, T. C., and Loeb, G. M. (2018). Overwintering behavior of *Drosophila suzukii*, and potential springtime diets for egg maturation. *Environmental Entomology*, 47(5):1266–1273.
- Walsh, B. S., Heys, C., and Lewis, Z. (2017). Gut microbiota influences female choice and fecundity in the nuptial gift-giving species, *Drosophila subobscura* (Diptera: Drosophilidae). *European Journal of Entomology*, 114:439–445.
- Walsh, D. B., Bolda, M. P., Goodhue, R. E., Dreves, A. J., Lee, J. C., Bruck, D. J., Walton, V. M., O’Neal, S. D., and Zalom, F. G. (2011). *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): invasive pest of ripening soft fruit expanding its geographic range and damage potential. *Journal of Integrated Pest Management*, 2(1):1–7.
- Wang, M. and Kong, L. (2019). pblat: a multithread blat algorithm speeding up aligning sequences to genomes. *BMC Bioinformatics*, 20(1):28.
- Weir, B. S. and Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38(6):1358–1370.
- Welles, S. R. and Dlugosch, K. M. (2019). Population genomics of colonization and invasion. In *Population genomics: concepts, approaches and applications*, Population Genomics, pages 655–683. Springer International Publishing, Cham.
- Westram, A. M., Galindo, J., Rosenblad, M. A., Grahame, J. W., Panova, M., and Butlin, R. K. (2014). Do the same genes underlie parallel phenotypic divergence in different *Littorina saxatilis* populations? *Mol.*

RÉFÉRENCES

- Ecol.*, 23(18):4603–16.
- White, A. S., Greenman, J., Benton, T. G., and Boots, M. (2006). Evolutionary behaviour in ecological systems with trade-offs and non-equilibrium population dynamics. *Evolutionary Ecology Research*, (8):387–398.
- Whiteley, A. R., Fitzpatrick, S. W., Funk, W. C., and Tallmon, D. A. (2015). Genetic rescue to the rescue. *Trends in Ecology & Evolution*, 30(1):42–49.
- Whitlock, M. C. (1996). The red queen beats the jack-of-all-trades: the limitations on the evolution of phenotypic plasticity and niche breadth. *The American Naturalist*, 148.
- Wichman, H. A., Badgett, M. R., Scott, L. A., Boulianne, C. M., and Bull, J. J. (1999). Different trajectories of parallel evolution during viral adaptation. *Science*, 285(5426):422–424.
- Wichman, H. A., Scott, L. A., Yarber, C. D., and Bull, J. J. (2000). Experimental evolution recapitulates natural evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 355(1403):1677–1684.
- Wiens, J. A. (1976). Population responses to patchy environments. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 7:81–120.
- Wiklund, C. (1975). The evolutionary relationship between adult oviposition preferences and larval host plant range in *Papilio machaon* L. *Oecologia*, 18(3):185–197.
- Williams, J. L., Kendall, B. E., and Levine, J. M. (2016). Rapid evolution accelerates plant population spread in fragmented experimental landscapes. *Science*, 353(6298):482–485.
- Williams, K. S. (1983). The coevolution of *Euphydryas chalcedona* butterflies and their larval host plants : III. Oviposition behavior and host plant quality. *Oecologia*, 56(2-3):336–340.
- Williamson, M. and Fitter, A. (1996). The varying success of invaders. *Ecology*, 77(6):1661–1666.
- Wiman, N. G., Dalton, D. T., Anfora, G., Biondi, A., Chiu, J. C., Daane, K. M., Gerdeman, B., Gottardello, A., Hamby, K. A., Isaacs, R., Grassi, A., Ioriatti, C., Lee, J. C., Miller, B., Stacconi, M. V. R., Shearer, P. W., Tanigoshi, L., Wang, X., and Walton, V. M. (2016). *Drosophila suzukii* population response to environment and management strategies. *Journal of Pest Science*, 89(3):653–665.
- Woltereck, R. (1909). Weitere experimentelle untersuchungen uber artveranderung, speziell uber das wesen quantitativer artunterschiede bei Daphniden. *Verh. Deutsc. Zool. Ges.*, 19:110–172.
- Woltz, J. M., Wiman, N. G., and Lee, J. C. (2017). Two pests overlap: *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) use of fruit exposed to *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Economic Entomology*, 110(4):1938–1941. WOS:000407164900070.
- Wong, A. C.-N., Wang, Q.-P., Morimoto, J., Senior, A. M., Lihoreau, M., Neely, G. G., Simpson, S. J., and Ponton, F. (2017). Gut microbiota modifies olfactory-guided microbial preferences and foraging decisions in *Drosophila*. *Current biology: CB*, 27(15):2397–2404.e4.
- Wood, T. K., Tilmon, K. J., Shantz, A. B., Harris, C. K., and Pesek, J. (1999). The role of host-plant fidelity in initiating insect race formation. *Evolutionary Ecology Research*, (1):317–332.
- Woolhouse, M. E., Taylor, L. H., and Haydon, D. T. (2001). Population biology of multihost pathogens. *Science (New York, N.Y.)*, 292(5519):1109–1112.
- Young, Y., Buckiewicz, N., and Long, T. A. F. (2018). Nutritional geometry and fitness consequences in *Drosophila suzukii*, the spotted-wing drosophila. *Ecology and Evolution*, (December 2017):1–10.
- Yuval, B. (2017). Symbiosis: gut bacteria manipulate host behaviour. *Current Biology*, 27(15):R746–R747.
- Zerulla, F. N., Augel, C., and Zebitz, C. P. W. (2017). Oviposition activity of *Drosophila suzukii* as mediated by ambient and fruit temperature. *Plos One*, 12(11):e0187682. WOS:000414769900065.
- Zerulla, F. N., Schmidt, S., Streithberger, M., Zebitz, C. P. W., and Zelger, R. (2015). On the overwintering ability

of *Drosophila suzukii* in South Tyrol. *Journal of Berry Research*, 5(1):41–48.

Zuefle, M. (2012). Preliminary assessment of spotted wing drosophila (SWD), *Drosophila suzukii*, infestation risk to tomatoes. report, New York State IPM Program.

Adaptive responses of *Drosophila suzukii*, a generalist invasive species

The evolution of the match between the phenotype of organisms and their environment is a major issue in evolutionary biology, especially in a context of global change. During my PhD, I investigated the adaptive response to spatio-temporal environmental heterogeneity at different geographic and temporal scales of the spotted wing drosophila *Drosophila suzukii*, an invasive generalist pest of fruit crops. I used ecological genetic approaches, that combine populations genomics and experimental approaches focusing on life-history trait analyses. Based on an association study between genome-wide allelic variations and the invasive or native status of 22 populations sampled worldwide, I identified candidate genes whose allelic variation was strongly associated with the invasion status of *D. suzukii*. On a finer time and geographic scale (*i.e.*, within a region of the invaded area), I studied the adaptive response of this species to spatio-temporal heterogeneity in host fruit availability. Using experimental evolution in the lab, I found that local adaptation patterns to host fruits emergence within less than 30 generations. Surprisingly, I detected a similar pattern in natural populations that evolved for less than four generations on the same fruit in the field. The speed of adaptive responses observed *in natura* raises important questions regarding the nature and the dynamics of processes influencing the evolution of fine geographic scale local adaptation in spatio-temporally heterogeneous environments. This PhD work provides new conceptual and methodological elements that improve our understanding of the dynamics of the adaptation of phytophagous insects to their host plant and of the evolutionary changes occurring during the invasion process.

Keywords: adaptation; *Drosophila suzukii*; specialization; biological invasion; spatio-temporal heterogeneity

Réponses adaptatives chez *Drosophila suzukii*, une espèce généraliste envahissante

Comprendre comment évolue l'adéquation entre le phénotype des organismes et leur environnement est un enjeu majeur de la biologie évolutive, notamment dans le contexte des changements globaux. Dans le cadre de cette thèse, j'ai étudié les réponses adaptatives aux pressions environnementales, à différentes échelles géographiques et temporelles de *Drosophila suzukii*, une espèce généraliste envahissante ravageuse des cultures fruitières. J'ai utilisé des méthodes de génétique évolutive combinant génomique des populations et approches expérimentales centrées sur l'étude des traits d'histoire de vie. A partir d'une analyse d'association entre la différenciation génétique et le statut natif ou invasif de 22 populations échantillonnées à travers le monde, j'ai identifié des gènes candidats présentant des variations alléliques fortement associées à l'invasion de *D. suzukii*. A une échelle temporelle et géographique plus fine (*i.e.*, au sein d'une région de l'aire envahie), je me suis intéressée à la réponse adaptative de cette espèce à une disponibilité des plantes hôtes hétérogène dans l'espace et dans le temps. En utilisant des approches d'évolution expérimentale, j'ai montré que des patrons d'adaptation locale aux fruits hôtes émergent en moins de 30 générations en laboratoire. De manière surprenante, j'ai détecté un patron semblable d'adaptation locale aux fruits hôtes dans des populations naturelles ayant passé moins de quatre générations sur un même fruit. La rapidité des réponses adaptatives observées *in natura* soulève de nombreuses questions sur la dynamique des processus influençant l'évolution de l'adaptation locale dans un environnement hétérogène dans l'espace et dans le temps à une échelle géographique fine. Les travaux de cette thèse ont permis d'apporter un ensemble d'éléments conceptuels et méthodologiques novateurs pour améliorer notre compréhension de la dynamique de l'adaptation des insectes phytophages à leurs plantes hôtes et des changements évolutifs ayant lieu au cours d'une invasion.

Mots-clés : adaptation; *Drosophila suzukii*; spécialisation; invasion biologique; hétérogénéité spatio-temporelle