

Thèmes de mémoire du laboratoire de physiologie adaptative et évolutive LEAP (F Silvestre) de l'UNamur



Site web du labo: www.evolution-physiology.be

Compte Twitter : <https://twitter.com/fsilvestrelab>

Documentaire Youtube:

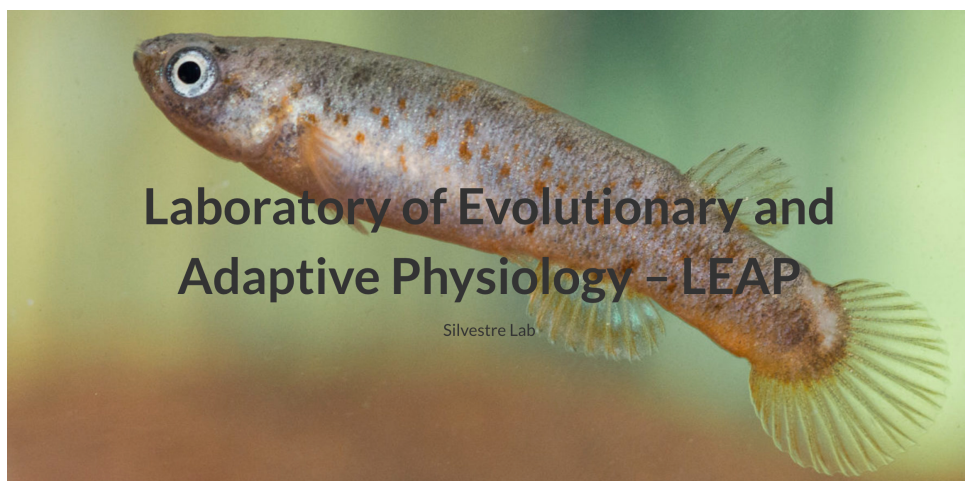
<https://www.youtube.com/watch?v=FsDtWwm-XoI&t=948s>

Les mémoires réalisés au sein du LEAP bénéficieront de l'encadrement des chercheurs suivants: Frédéric Silvestre (promoteur), Justine Belik (assistante-doctorante), Julie Hétru (doctorante UNamur-UCLouvain), Jérôme Lambert (technicien).

Les thèmes de mémoire proposés sont susceptibles de déboucher sur une thèse de doctorat.

Les étudiants choisissant un sujet de mémoire au LEAP devraient suivre les modules « ecotoxicology » et « functional genomics ».

Pour plus d'infos, contacter frederic.silvestre@unamur.be



Contexte de la recherche :

Nos sujets de recherche sont variés mais ont comme point commun qu'ils tentent de comprendre **comment les organismes réagissent, s'adaptent et évoluent dans un environnement en perpétuel changement** dû, notamment, aux activités humaines. Nous nous focalisons sur des espèces aquatiques, surtout des poissons, et travaillons principalement sur les mécanismes (on dit aussi les causes proximales) qui expliquent ces effets, mais aussi sur les causes ultimes liées aux théories de l'évolution.

Nos recherches sont divisées en 3 axes

Axe 1: Nous tentons de comprendre **les mécanismes régissant l'expression de traits de personnalité**. Ces traits sont des phénotypes comportementaux qui sont propres à un individu et qui définissent ainsi sa personnalité. On parle par exemple du niveau d'audace, d'agressivité, d'activité, ou encore d'exploration, pour ne citer que les plus connus. Tout comme l'homme, les poissons (et autres animaux) ont chacun une personnalité. Certains sont ainsi plus audacieux que d'autres (ils prennent plus de risques), alors que d'autres sont plus timides. Le rivulus des mangroves est un excellent modèle pour étudier l'expression de tels traits de personnalité au sein de populations très peu diversifiées génétiquement. Nous tentons dès lors de comprendre les possibles mécanismes épigénétiques dans le cerveau impliqués dans ces comportements.

Axe 2: Les perturbations environnementales sont actuellement nombreuses et variées. Les organismes n'ont d'autre choix que de s'y adapter...ou disparaître. Nous avons pour objectif de comprendre **les effets à long terme de stress environnementaux sur des modèles de killifish**. Ceux-ci sont plus pertinents que les effets à court terme, ou aigus, dans le sens que les organismes sont continuellement en contact avec de faibles niveaux de stress, mais pouvant affecter la survie et l'équilibre des populations. Ainsi, nous nous focalisons sur deux effets présumés. D'une part, nous voulons comprendre les effets qu'a un stress environnemental présent pendant les premiers stades de vie de l'organisme, sur l'animal adulte. Ces effets sont qualifiés de "permanents" s'ils sont présents dès l'exposition jusqu'au stade adulte, ou de "post-posés" s'ils n'apparaissent que plus tard dans la vie de l'animal, alors que le stress a disparu depuis longtemps. Ces derniers sont d'un intérêt humain important car ils peuvent expliquer l'apparition de maladies à un âge avancé alors que la cause environnementale est à rechercher bien plus tôt. Le rivulus des mangroves, de par sa faible diversité génétique, est un modèle de choix afin d'étudier les mécanismes épigénétiques pouvant expliquer les effets à long terme de stress. Un deuxième modèle, étudié dans notre laboratoire, est également un modèle de choix car il a la particularité de vieillir très vite (en 5 mois) et donc d'imiter le vieillissement humain: le killifish turquoise, *Nothobranchius furzeri*. Ce poisson vit dans des marres temporaires de l'Afrique du sud-est. Plusieurs stress environnementaux sont étudiés mais nous nous

focalisons principalement sur l'effets de composés neurotoxiques largement répandus dans l'environnement comme les pesticides pyréthrynoïdes (perméthrine, deltapéthrine, bifenthrine, cyperméthrine, etc).

Axe3: Depuis Charles Darwin, les théories de l'évolution se nourrissent de nouvelles données scientifiques qui nous permettent d'affiner nos connaissances sur les mécanismes impliqués. La théorie synthétique étendue de l'évolution ("extended evolutionary synthesis") a pour objectif de regrouper les mécanismes classiques darwiniens avec des observations plus récentes comme les mécanismes épigénétiques. **Grâce aux modèles killifish, nous tentons de comprendre le rôle joué par l'épigénétique dans l'adaptation et l'évolution.** A ce jour, deux grandes questions limitent notre interprétation. D'une part, la variabilité épigénétique est difficile à différencier de la variabilité génétique. Cela empêche de comprendre correctement la part réellement jouée par l'épigénétique dans l'adaptation et l'évolution. D'autre part, pour que l'épigénétique ait un effet durable sur une population, il faut que les marques épigénétiques puissent être transmises d'une génération à l'autre. Si cela est possible, on est encore loin de bien en comprendre les mécanismes, et surtout les limitations. Pour soulever ces questions, le rivulus des mangroves est un modèle de choix puisqu'il présente naturellement peu de diversité génétique, mais que cette diversité est variable d'une population à l'autre. Nous menons ainsi des campagnes de terrain au Belize et en Floride afin de suivre la diversité épigénétique de ces populations. Nous tentons également de comprendre le passage de ces marques entre les générations via ce que l'on appelle l'hérédité épigénétique transgénérationnelle.

Quelles sont les applications de nos recherches ?

Outre produire des connaissances fondamentales sur les modèles biologiques étudiés, sur les écosystèmes où vivent ces espèces (comme les mangroves), sur l'expression de personnalités, ou encore sur les théories de l'évolution, nos recherches peuvent déboucher sur des applications concrètes utiles à l'homme. Nous pouvons ainsi citer:

- **l'évaluation du risque environnemental (ERE):** dans un monde frappé par des changements globaux climatiques ou de pollution, la prise en compte des effets à long terme des stress sur les organismes permet de mieux en évaluer les risques (à la fois en terme de santé humaine et de biodiversité), et donc de mieux les contrôler.
- **le développement de maladies liées à l'âge:** les effets postposés d'une exposition à un stress environnemental, comme à un composé neurotoxique, peuvent être dramatiques en terme de santé publique, comme le développement de maladies neurodégénératives. Nos modèles de killifish, avec des particularités biologiques uniques (faible diversité génétique ou vieillissement précoce)

permettent de mieux comprendre le développement de telles maladies, et donc de potentiellement mieux les traiter.

- **l'origine des traits de personnalité:** mieux comprendre les mécanismes régissant l'expression de traits de personnalités permettra également de mieux comprendre les troubles de ceux-ci ou des maladies qui modifient la personnalité.
- **l'origine de variations phénotypiques:** comprendre l'origine des variations phénotypiques dans une population permet de mieux connaître son potentiel adaptatif et donc son potentiel de réponse face à un nouveau stress environnemental. La compréhension du rôle joué par les mécanismes épigénétiques dans cette variation phénotypique est fondamentale afin de comprendre l'évolution de certaines maladies (ex: cancers) ou de prédire les réponses individuelles à un agent pathogène (ex: SARS-Cov2).
- **conservation de la biodiversité:** une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans l'évolution des populations sauvages permettra de mieux définir des unités évolutives et d'affiner les politiques en terme de conservation de la biodiversité.

Mémoires proposés

Trois mémoires sont proposés dans ces thématiques.

1° Application de l'*epigenetic clock* pour développer une méthode non-léthale d'estimation de l'âge du rivulus des mangroves.

Une estimation efficace et précise de l'âge des poissons est essentielle pour comprendre la structure démographique des populations et, par conséquent, leur dynamique. Plusieurs prédicteurs biologiques ont été étudiés, notamment la longueur des télomères, des prédicteurs protéomiques ou métabolomiques et dernièrement la méthylation de l'ADN. Il s'agit d'une marque épigénétique stable jouant un rôle important dans la régulation des gènes. L'horloge épigénétique est basée sur les changements systématiques des niveaux de méthylation avec l'âge. Elle a déjà été déterminée pour de nombreux vertébrés, dont l'homme, et est en développement pour le rivulus des mangroves au sein du laboratoire. Le rivulus des mangroves, *Kryptolebias marmoratus*, présente une stratégie d'accouplement mixte, où les individus hermaphrodites peuvent s'autoféconder, produisant une lignée naturellement isogénique, et se reproduire avec des mâles, créant ainsi un gradient de diversité génétique. Ce mode de reproduction unique parmi les vertébrés fait du rivulus de mangrove une espèce clé pour l'étude de l'épigénétique.

L'objectif de ce mémoire est d'utiliser les récents résultats d'*epigenetic clock*, développée sur des échantillons de cerveaux, et de les adapter à des échantillons de nageoire caudale.

Des questions scientifiques plus vastes peuvent englober le vieillissement ou les effets de l'environnement sur l'horloge épigénétique. Ce mémoire allie travail de laboratoire (extraction ADN, PCR et séquençage) et bio-informatique (notamment design de primers et développement de modèles de prédiction). Ce projet s'inscrit dans le cadre d'une thèse visant à caractériser la méthylation de l'ADN du rivulus des mangroves selon trois échelles temporelles : individuelle (*epigenetic clock*), transgénérationnelle et populationnelle.

Mots clefs : rivulus des mangroves, epigenetic clock, séquençage, modèle de prédiction.

2° L'exposition a un perturbateur endocrinien (éthynylestradiol) induit-elle une altération du comportement chez le rivulus des mangroves ?

L'éthynylestradiol (EE2) est le composant principal de la pilule contraceptive et est largement retrouvé dans les eaux de surfaces. Sa capacité de perturbation du système de reproduction chez le poisson est bien étudiée. En revanche, peu de données sont disponibles sur l'impact neuronal de ce polluant. En effet, ce perturbateur endocrinien altère le système hormonal général du poisson pouvant mener à des effets cognitifs, notamment sur la sociabilité et l'agressivité du poisson.

L'étude du comportement après exposition chez les rivulus des mangroves, pourtant proches génétiquement, permettra d'identifier les mécanismes sous-jacents étant altérés par l'EE2. Dans ce contexte, le comportement d'individus (larves et adultes) sera testé sur plusieurs conditions. La mesure des hormones (par test ELISA) ainsi que l'expression de gènes (RTqPCR) spécifiques du système endocrinien seront menées sur des cerveaux de poissons adultes appartenant à une descendance de poissons exposés à l'EE2 sur tout leur cycle de vie. Ce mémoire s'inscrit dans un projet intergénérationnel déjà débuté, afin de comprendre les effets de l'EE2 sur le long terme pour la protection des écosystèmes.

Mots clés : rivulus ; perturbateur endocrinien ; écotoxicologie ; comportement ; hormones

3° Étude des effets d'une exposition précoce, tardive et cumulée à la bifenthrine chez le killifish turquoise

Parmi les insecticides les plus utilisés et retrouvés dans l'environnement, les pyréthriinoïdes font partie des trois principales familles d'insecticides avec les néonicotinoïdes et l'atrazine. Largement utilisés dans l'agriculture, mais aussi dans un contexte urbain depuis les années 80, ces pesticides sont présents dans le monde entier et représentent à eux seuls 25% du marché mondial. Ces composés sont reconnus pour disposer d'une haute efficacité mais une faible toxicité chez les mammifères et les oiseaux, à la différence des organochlorés et organophosphorés, ce qui explique leur utilisation

massive. La bifenthrine est un pyréthrianoïde largement utilisé comme insecticide que ce soit dans l'agriculture ou chez les particuliers. Plusieurs études mettent en avant son impact sur le comportement et le fonctionnement du système nerveux (inhibition des neurotransmetteurs dopaminergiques, des troubles de la neurogenèse associés à une démyélinisation des neurones, ...) chez différentes espèces de poissons, en particulier lors des premiers stades de développement.

L'objectif de ce mémoire sera d'étudier les effets de la bifenthrine sur le killifish turquoise (*Nothobranchius furzeri*) en réalisant différentes expositions (précoce, tardive, cumulée) au cours de son développement. Afin d'analyser les effets neurotoxiques de cette substance, différents tests comportementaux seront réalisés à trois time-points : 2 semaines post-éclosion ; 12 semaines post-éclosion et 20 semaines post-éclosion. L'expression de gènes (RTqPCR) impliqués dans le neuro-développement et la neurotransmission, en lien avec une exposition à la bifenthrine sera étudiée. Ce travail s'inscrit dans le cadre d'un projet de thèse visant à étudier l'impact de la bifenthrine sur l'horloge épigénétique chez le killifish turquoise.

Mots clés : killifish turquoise, bifenthrine, neurotoxique, écotoxicologie, comportement.