

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



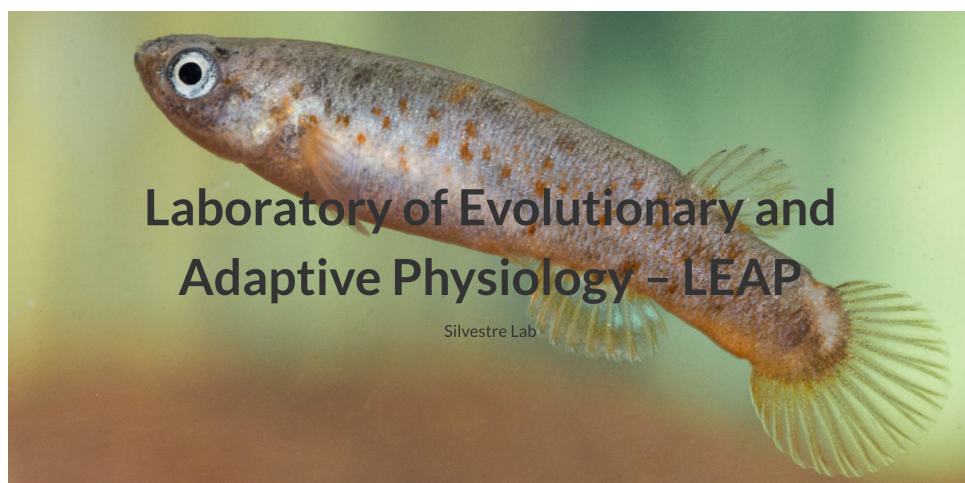
Site web du labo: www.evolution-physiology.be

Les mémoires réalisés au sein du LEAP bénéficieront de l'encadrement des chercheurs suivants: Frédéric Silvestre (promoteur), Justine Belik (assistante-doctorante), Brianna Perino (doctorante FNRS), Jérôme Lambert (technicien), Jean-Baptiste Robert (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 « Stress ecology and ecotoxicology » (pour ceux travaillant avec des polluants) et « Molecular ecology and biodiversity genomics ». De plus, la formation en expérimentation animale niveau technicien est requise pour travailler sur des animaux de laboratoire. L'anglais est nécessaire pour travailler dans un environnement international.

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 mais aussi sur des mammifères marins, 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. Une publication récente de Justine Bélik « Ontogenetic emergence of behavioral consistency in a self-fertilizing fish » montre que le rivulus acquiert sa personnalité « définitive » entre 10 et 60 jours après éclosion ([Open Access](#)).

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 poissons et de mammifères marins**. Ces effets 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

rapidement (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. **Nous tentons ainsi 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. Enfin, nous travaillons également sur ce que l'on appelle les horloges épigénétiques, sortes de marqueurs moléculaires de l'âge biologique. Ces horloges permettent à la fois de mieux comprendre la structure des populations naturelles, mais aussi d'intégrer l'âge dans la notion de stress environnemental. Une horloge épigénétique vient d'être publiée par Justine Bélik dans le cerveau du rivulus ([Open Access](#)) alors qu'une autre est en cours de développement par Brianna Perino sur le béluga du fleuve Saint-Laurent.

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 une 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

Deux mémoires sont proposés dans ces thématiques.

1° Les pesticides modifient-ils le vieillissement épigénétique du cerveau chez le rivulus des mangroves ?

De nombreux pesticides possèdent des propriétés neurotoxiques et perturbent le fonctionnement normal du cerveau des vertébrés, des poissons aux mammifères. Par ailleurs, le vieillissement cérébral s'accompagne d'une probabilité accrue de développer des maladies neurodégénératives. Toutefois, le lien entre exposition aux pesticides et vieillissement du cerveau reste encore peu clair. Dans ce mémoire, nous proposons de nous appuyer sur de récents résultats obtenus au LEAP sur le rivulus des mangroves (*Kryptolebias marmoratus*). En effet, nous y avons développé la première horloge épigénétique du cerveau d'un vertébré, ainsi que la première appliquée à un organisme isogénique. L'objectif principal de ce mémoire est de tester, par une approche ciblée, les

effets de pesticides fréquemment rencontrés dans l'habitat naturel de cette espèce (atrazine, diuron, ou imidaclopride) sur l'horloge épigénétique (40 marqueurs CpG), afin de déterminer **si l'exposition à ces composés induit un vieillissement épigénétique accéléré du cerveau**. Ces effets pourront être mis en relation avec des traits phénotypiques comportementaux (distance parcourue, vitesse de nage, audace, etc.).

Ce mémoire nécessitera des expériences sur animaux exposés à des pesticides. L'étudiant(e) devra maintenir les stocks d'élevage et les individus expérimentaux, réaliser les expositions aux pesticides, procéder à des dissections afin d'extraire le cerveau, extraire l'ADN, effectuer des PCR, analyser les données par bioinformatique, réaliser des tests comportementaux et analyser les vidéos à l'aide d'EthoVision et par modélisation statistique. L'étudiant(e) aura choisi le module d'écotoxicologie et celui d'écologie moléculaire, ainsi que le cours d'expérimentation animale. Toutes les techniques d'analyses, ainsi que les workflow bioinformatiques sont déjà en place au LEAP.

Mots-clés : écotoxicologie, pesticides, vieillissement, épigénétique, comportement, rivulus des mangroves

Encadrant principal: Frédéric Silvestre

Encadrants secondaires: Justine Bélik, Jean-Baptiste Robert

2° Utilisation d'une horloge épigénétique chez le béluga du Saint-Laurent

La population de bélugas (*Delphinapterus leucas*) du fleuve Saint-Laurent, au Québec, est menacée par plusieurs facteurs d'origine anthropique, notamment le réchauffement climatique et les pollutions. À ce jour, il n'existe pas de méthode fiable pour estimer l'âge des individus, ce qui constitue une lacune importante dans les paramètres de suivi de cette population. Afin de pallier ce manque, le LEAP développe une horloge épigénétique fondée sur la méthylation de l'ADN, à partir d'échantillons de peau, de tissu adipeux et de foie issus de biopsies et de nécropsies. L'objectif de ce mémoire est d'exploiter les données de cette horloge afin de la valider et de l'appliquer sur le terrain, dans la perspective d'évaluer l'état de santé de la population et de détecter un éventuel vieillissement épigénétique accéléré lié aux perturbations environnementales. L'étudiant(e) devra principalement analyser les données de méthylation à l'aide d'outils bioinformatiques. Il/elle évaluera l'influence de l'épigénétique (méthylation de l'ADN) sur la relation entre l'âge chronologique et l'âge biologique, et examinera les disparités entre les populations de bélugas de l'Arctique et de l'estuaire du Saint-Laurent (ESL). Des travaux de laboratoire complémentaires pourront être réalisés à Namur sur des échantillons de mammifères marins afin d'optimiser l'extraction d'ADN, la qPCR pour la mesure de la longueur des télomères (marqueur de stress cellulaire) et la préparation de banques de séquençage. Des questions liées à la biologie du stress cellulaire, à l'immunologie et à l'écotoxicologie pourront également être abordées, en particulier l'analyse comparative entre une population fortement contaminée (Saint-Laurent) et une population arctique canadienne

moins contaminée. Une partie du travail pourrait être effectuée dans notre laboratoire partenaire à l'UQAM, à Montréal (travaux de laboratoire : extraction d'ADN, qPCR, séquençage). L'étudiant(e) pourra éventuellement participer à des campagnes d'échantillonnage sur le terrain (collecte de biopsies dans l'ESL, Québec) en septembre 2027, sous réserve d'obtention des permis. L'étudiant(e) aura choisi le module d'écotoxicologie et celui d'écologie moléculaire. Le cours d'expérimentation animale n'est pas nécessaire.

Mots-clés : béluga, épigénétique, écotoxicologie, vieillissement, bioinformatique, conservation

Encadrant principal: Brianna Perino (English speaking)

Encadrants secondaires: Frédéric Silvestre, Justine Bélik, Jérôme Lambert, Jonathan Verreault (UQAM)