

Résumé

L'épigénomique figure parmi les domaines de recherche les plus dynamiques et en pleine expansion au sein des sciences du vivant. Elle améliore notre compréhension des mécanismes moléculaires à l'origine de variations phénotypiques pertinentes tant sur le plan taxonomique qu'évolutif, en explorant la manière dont des signatures épigénétiques, telles que la méthylation de l'ADN, peuvent agir comme des moteurs importants de la diversité phénotypique. Il est intéressant de noter que ces modifications peuvent être induites par l'environnement et peuvent moduler les niveaux d'expression génique au sein d'un individu, permettant ainsi à un même génotype de présenter une variation phénotypique remarquable en fonction de son environnement (plasticité phénotypique). Ces processus épigénétiques pourraient, au moins en partie, rendre compte de la variation morphologique intraspécifique parfois exceptionnelle, et source de confusion taxonomique, observée dans la nature et dans les collections de musées.

Malgré la reconnaissance croissante des opportunités sans précédent qu'offrent les collections d'histoire naturelle et le rythme accru auquel elles sont mobilisées à des fins scientifiques, ces collections restent à ce jour largement sous-exploitées en recherche épigénomique. Bien que l'Institut royal des Sciences naturelles de Belgique (IRSNB) dispose d'une longue tradition de recherche évolutive fondée à la fois sur des collections muséales et des échantillons contemporains, l'expertise épigénomique interne nécessaire à l'exploration de ces ressources fait actuellement défaut à l'IRSNB. L'objectif général de ce projet est donc d'introduire de nouvelles compétences technologiques et analytiques en épigénomique au sein de l'IRSNB afin de renforcer et de stimuler la recherche évolutive basée sur les collections.

Bien qu'une grande variété de marqueurs épigénétiques ait été décrite et étudiée, l'analyse de la méthylation des cytosines semble être la méthode la plus prometteuse pour les études épigénomiques sur les collections muséales. En effet, ce type de modification épigénétique est supposé rester stable sur de longues périodes. Nous avons appliqué le séquençage du génome entier ainsi que le séquençage bisulfite à représentation réduite pour détecter les profils de méthylation de l'ADN. Lors du traitement au bisulfite, seules les cytosines non méthylées sont converties en uraciles, tandis que les cytosines méthylées restent inchangées.

Nous avons examiné les profils de méthylation d'échantillons de musée conservés dans des conditions suboptimales (c'est-à-dire échantillonnés il y a plus de trente ans et conservés dans l'éthanol à température ambiante) et les avons comparés à ceux obtenus à partir d'échantillons conservés dans des conditions optimales (stockés à -80°C , congelés instantanément à l'azote liquide lors de l'échantillonnage). Les graphiques de fréquence montrant le pourcentage de bases méthylées dans les échantillons conservés dans l'éthanol étaient comparables à ceux observés dans les échantillons conservés dans des conditions optimales. De plus, des tendances similaires ont été observées pour les estimations de méthylation par paire de bases. Afin d'évaluer si de moins bonnes conditions de conservation pourraient biaiser les résultats en augmentant ou diminuant les niveaux de méthylation, nous avons extrait les taux de méthylation maximaux et minimaux par site à partir de la base de données des échantillons conservés de manière optimale. Ces limites supérieure et inférieure ont été définies comme la plage de méthylation attendue par site. Globalement, seuls 2,89 % et 3,04 % des

sites ont été identifiés comme respectivement hyperméthylés (au-dessus de la plage attendue) et hypométhylés (au-dessous de la plage attendue) dans les échantillons conservés dans l'éthanol, tandis que 94,1 % des sites présentaient des valeurs de méthylation comprises dans la plage attendue. En outre, ces sites hyper- et hypométhylés étaient répartis aléatoirement au niveau des sites et des individus. En conclusion, nous n'avons trouvé aucune preuve que les échantillons de musée conservés dans des conditions moins optimales présentent des signatures claires d'hypo- ou d'hyperméthylation. Les taux de méthylation de ces échantillons restant comparables à ceux conservés selon les normes de conservation les plus strictes. Il apparaît donc que les profils de méthylation ne sont pas affectés par des conditions de conservation inférieures, et que ce type de collections constitue une ressource précieuse pour de futures études épigénomiques basées sur les musées.

Nous avons ensuite appliqué cette expertise nouvellement acquise pour étudier le rôle de la méthylation de l'ADN dans l'évolution adaptative des coléoptères du genre *Calosoma* et pour évaluer les contributions relatives de la détermination génétique et de la plasticité phénotypique aux adaptations morphologiques chez les gastéropodes *Tectarius*.

L'IRSNB possède une longue expérience dans la recherche évolutive sur les radiations adaptatives, avec une attention particulière sur celles survenant aux Galápagos. L'une des radiations les plus intrigantes concerne les coléoptères *Calosoma*, dont les représentants se sont diversifiés de manière répétée en écotypes de haute et de basse altitude le long d'un gradient d'altitude répliqué sur toutes les îles principales. Au sommet des volcans, ces espèces présentent une réduction marquée de la taille des traits liés à la dispersion (par exemple, une réduction de la taille des ailes). Nous avons ici examiné le rôle de la méthylation dans l'évolution adaptative en évaluant si des régions génomiques précédemment identifiées comme étant sous sélection génétique étaient enrichies en régions différenciellement méthylées. Malheureusement, aucune signature de méthylation n'a pu être détectée dans les échantillons. Cela pourrait indiquer soit que le génome des coléoptères n'est pas méthylé et que la méthylation ne joue donc pas un rôle crucial dans le développement différentiel des ailes, soit que les gènes clés ne sont pas méthylés chez les adultes (stade étudié ici), mais plutôt à d'autres stades du développement (par exemple larvaires). L'exploration d'une autre technologie épigénomique visant à caractériser la structure de la chromatine ouverte s'est toutefois révélée très prometteuse.

Dans une seconde étude de cas, nous avons examiné le polymorphisme de la coquille chez le bigorneau à développement planctonique *Tectarius striatus* aux Açores et au Cap-Vert. Deux morphotypes de coquille coexistent à une échelle microgéographique, mais présentent une distribution non aléatoire dans l'environnement. Le morphotype « noduleux », caractérisé par une coquille fortement sculptée et plus légère, prédomine dans les zones abritées des vagues. À l'inverse, le morphotype « lisse » est le plus fréquemment observé dans les zones exposées à la houle. Ces morphologies de coquille liées à l'habitat correspondent à des stratégies fonctionnelles distinctes. Dans cette étude, nous avons analysé à la fois la variation génomique et épigénomique afin d'identifier les mécanismes moléculaires sous-jacents à la variation observée de la coquille. Alors que les analyses génomiques ont révélé une structuration claire des populations en fonction des îles, aucune différence génomique spécifique aux morphotypes n'a été détectée. En revanche, la variation épigénomique a permis de distinguer les deux morphotypes de coquille, avec plusieurs sites présentant une méthylation différentielle significative. Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que la morphologie de la coquille constitue un trait plastique déterminé par des mécanismes épigénétiques.

En conclusion :

- Les protocoles épigénomiques de laboratoire moléculaire ainsi que les pipelines bioinformatiques ont été établis avec succès pour l'analyse de spécimens de musée et peuvent désormais être transmis aux chercheurs de l'IRSNB ainsi qu'à d'autres institutions.
- Les spécimens conservés dans des conditions suboptimales peuvent toutefois fournir des données épigénomiques de haute qualité, confirmant leur intérêt pour la recherche épigénomique basée sur les collections de musées. Ces résultats justifient et encouragent de nouveaux investissements dans l'exploration d'une plus grande diversité de types de collections muséales.
- Bien que le génome de *Calosoma* semble dépourvu de méthylation de l'ADN, l'étude des structures de chromatine ouverte représente une voie alternative prometteuse pour l'analyse épigénomique.
- La morphologie adaptative de la coquille chez les gastéropodes ne présente pas de base génétique détectable, mais semble être principalement déterminée par des mécanismes épigénétiques.