

CHAPITRE 1

EXPRESSION DU GÈNE D'IGF-I DANS LE FOIE D'OMBLES DE FONTAINE (*SALVELINUS FONTINALIS*) ANADROMES, RÉSIDENTS ET HYBRIDES

1.1 RÉSUMÉ

L'objectif de cette étude était de comparer des profils d'expression d'IGF-I dans le foie d'ombles de fontaines anadromes, résidents et hybrides originaires de la rivière Laval, au Québec, mais tous élevés en eau douce de l'éclosion jusqu'à leur transfert en eau de mer, en fonction du type de croisement, de la famille et du sexe. J'ai également vérifié si l'expression d'IGF-I possédait une base génétique importante, par des calculs d'héritabilité, et de déterminer la nature des effets génétiques impliqués (additifs ou parentaux). Des ombles de fontaine anadromes (A) et résidents (R) provenant du même bassin hydrographique ont été utilisés pour produire quatre types de croisements ($\text{♀A}\text{♂A}$, $\text{♀A}\text{♂R}$, $\text{♀R}\text{♂A}$, et $\text{♀R}\text{♂R}$). Les conditions d'élevage étaient identiques, de l'incubation des oeufs jusqu'à l'âge de 22 mois. Avant transfert en eau de mer, l'expression hépatique d'IGF-I ne différait pas significativement d'un croisement à l'autre. Après 14 jours en eau de mer, l'expression d'IGF-I s'est avérée significativement plus élevée chez les ombles RR par rapport au niveau observé en eau douce alors qu'aucune augmentation significative de l'expression d'IGF-I ne s'est produite chez les ombles anadromes durant la même période. Étant donné que le patron général d'expression d'IGF-I restait toutefois similaire entre les croisements, soit l'intensité de cette hausse était moindre chez les anadromes, soit elle était masquée par la forte variabilité des réponses d'expression pour cette souche pure. Ces résultats pourraient aussi indiquer une plus grande nécessité d'augmenter la tolérance à la salinité pour les résidents et les hybrides résidents anadromes. De plus, les valeurs d'héritabilité de l'expression d'IGF-I différaient nettement entre les croisements purs. Ainsi l'héritabilité était significative et élevée chez les anadromes ($h^2 = 0,58 \pm 0,38$) alors qu'elle

était pratiquement nulle ($h^2 = 0,00 \pm 0,00$) chez les résidents. Les réponses des hybrides se sont avérées similaires à celles de leurs lignées paternelles. Toutefois, les faibles ratios de variance additive maternelle ou paternelle sur la variance phénotypique de l'expression d'IGF-I tendaient à démontrer que les effets parentaux étaient modestes relativement aux effets génétiques additifs pour ce trait. L'expression d'IGF-I chez les poissons échantillonnés à la fin de l'été, après leur retour en eau douce, était généralement plus faible qu'après le transfert en eau de mer, et ce pour tous les croisements. Des différences d'expression d'IGF-I entre les familles ont été observées, avant et après le transfert en eau de mer et après le retour des poissons en eau douce, ce qui pourrait être lié à la variation interfamiliale de plusieurs autres traits morphologiques et physiologiques comme la masse corporelle, le taux de croissance moyen et l'indice hépato-somatique. Enfin, l'expression d'IGF-I était globalement plus élevée chez les mâles que chez les femelles. Dans l'ensemble, ces résultats indiquent qu'il existe des différences génétiques quantitatives entre ombles de fontaines résidents et anadromes de la Rivière laval. Cependant, la valeur adaptative de ces différences reste à établir.

1.2 EXPRESSION DU GÈNE D'IGF-I DANS LE FOIE D'OMBLES DE FONTAINE (*SALVELINUS FONTINALIS*) ANADROMES, RÉSIDENTS ET HYBRIDES

INTRODUCTION

Les habitats fréquentés par l'omble de fontaine sont hautement hétérogènes, dans le temps et l'espace, sur le plan des caractéristiques physiques, telles que la température, le débit moyen des cours d'eau, la nature du substrat utilisé pour les sites de frai, entre autres (Scott et Crossman, 1990). L'utilisation d'habitats différents peut impliquer la présence d'adaptations spécifiques pour s'y développer et se reproduire adéquatement. Cependant, un autre facteur potentiellement important pour cette utilisation d'habitats variables est la plasticité phénotypique considérable des ombles, qui leur permet d'adapter leur morphologie, leur physiologie (par exemple leur taux de croissance) et leur comportement à un large éventail de conditions environnementales (Hutchings, 1996).

Chez l'omble de fontaine, comme chez d'autres espèces de salmonidés, les stratégies migratrices, ainsi que les traits physiologiques qui y sont rattachés, varient considérablement entre les populations (Boula *et al.*, 2002) ou encore au sein d'une même population (on parle alors de tactique migratrice; Jonsson et Jonsson, 1993; Morinville et Rasmussen, 2003). Chez cette espèce, il n'existe apparemment aucune population

strictement anadrome (Curry *et al.*, 2010). Au Québec, la rivière Sainte-Marguerite (Morinville et Rasmussen, 2003; Thériault et Dodson, 2003; Lenormand *et al.*, 2004; Thériault *et al.*, 2007a) et la rivière Laval (Boula *et al.*, 2002; Castric et Bernatchez, 2003; Courtemanche *et al.*, 2006; Curry *et al.*, 2006), entre autres, figurent parmi les systèmes au sein desquels les formes anadrome et résidente coexistent. Sur la rivière Laval, anadromes et résidents constituent deux populations génétiques différentes vivant en sympatrie (Boula *et al.*, 2002; Castric et Bernatchez, 2003; Curry *et al.*, 2010); on est donc en présence de populations exhibant des stratégies migratrices différentes. Au contraire, sur la rivière Sainte-Marguerite, résidents et anadromes font partie d'une seule population génétique (Morinville et Rasmussen, 2003; Thériault et Dodson, 2003) et les différents individus adoptent donc des tactiques migratrices différentes.

La présence de tactiques migratrices différentes pourrait être liée à la croissance corporelle. Ainsi, les individus dont le taux de croissance corporelle est supérieur à un seuil déterminé génétiquement seraient susceptibles d'adopter une tactique reproductrice donnée (dont la tactique anadrome), alors que les individus dont le taux de croissance est inférieur à ce seuil adopteraient une autre tactique (Piché *et al.*, 2008). Thériault et Dodson (2003) ont montré que, dans la rivière Sainte-Marguerite, les ombles de plus grande taille tendaient à migrer plus tôt que ceux de plus petite taille, vraisemblablement en raison d'un coût de migration relativement plus élevé pour ces derniers. Par ailleurs, dans le cas de populations résidentes et anadromes différenciées, l'adoption de stratégies migratrices différentes par

les ombles de fontaine refléterait vraisemblablement des divergences adaptatives résultant de pressions de sélection différentes au sein des habitats hautement hétérogènes et variables fréquentés par celles-ci (Hendry *et al.*, 2004; Perry *et al.*, 2005). Les ombles anadromes, occupant des habitats au sein desquels la vitesse du courant et la disponibilité des ressources alimentaires seraient supérieures à celles au sein des habitats occupés par les résidents, auraient des coûts métaboliques, et donc une consommation de nourriture, plus importants que ceux des résidents (Chernoff et Curry, 2007). Dans ce contexte, la croissance des anadromes serait supérieure à celle des résidents malgré les dépenses énergétiques associées à l'utilisation d'habitats à vitesse plus élevée (Chernoff et Curry, 2007).

Tel qu'indiqué précédemment, la croissance corporelle est l'un des traits physiologiques susceptibles de différencier anadromes et résidents. En effet, chez plusieurs espèces de salmonidés, dont l'omble de fontaine, l'atteinte d'un seuil de taille minimal est nécessaire pour entreprendre les changements physiologiques associés à l'osmorégulation en eau de mer (Naiman *et al.*, 1987; McCormick, 1994; Curry *et al.*, 2010). Ainsi, les individus n'ayant pas atteint le seuil de taille minimal requis devraient retarder leur migration en eau de mer et demeurer en eau douce une année supplémentaire. La croissance est donc un facteur important à étudier pour comprendre les enjeux physiologiques associés au mode de vie anadrome.

Chez les salmonidés, comme chez les autres vertébrés, la croissance corporelle est principalement régulée par l'hormone de croissance (GH) (Sakamoto et Hirano, 1993; Kopchick et Andry, 2000; Caiduch-Giner *et al.*, 2001) et les facteurs de croissance insuliniques I et II (IGF-I et IGF-II) (Palamarchuk *et al.*, 1997; Shimizu *et al.*, 1999; Beckman *et al.*, 2004). IGF-I est un peptide synthétisé dans le foie sous l'action de la GH (Jones et Clemmons, 1995; Vong *et al.*, 2003; Jentoft *et al.*, 2004), mais aussi dans plusieurs autres tissus, tels que les muscles, l'intestin et les gonades (Jones et Clemmons, 1995; Wood *et al.*, 2005). L'IGF-I produit par le foie semble principalement agir de façon endocrine (Björnsson *et al.*, 2002). En revanche, l'IGF-I produit dans les autres tissus, tels que les branchies et les muscles, est davantage susceptible d'agir localement, de façon paracrine ou autocrine (D'Ercole *et al.*, 1984; Reinecke *et al.*, 1997; Jentoft *et al.*, 2004) et pas nécessairement sous contrôle de la GH (Vong *et al.*, 2003). Plusieurs facteurs externes, tels que le statut nutritionnel (Duan, 1998; Baños *et al.*, 1999; Aas-Hansen *et al.*, 2005) et la photopériode (Björnsson *et al.*, 1994), influencent la régulation de l'axe GH/IGF-I. La majorité des fonctions de la GH, en particulier celles liées à la croissance et au développement des tissus (Björnsson *et al.*, 2002; Shimizu *et al.*, 2003; Vong *et al.*, 2003), semblent s'exercer par l'entremise d'IGF-I (Jones et Clemmons, 1995; Duan, 1997). IGF-I peut également exercer une rétroaction négative sur la sécrétion de GH par l'hypophyse (Larsen *et al.*, 2004; Cameron *et al.*, 2005).

IGF-I exerce également plusieurs autres fonctions physiologiques importantes, telles que la modulation du métabolisme (Méndez *et al.*, 2001; Nordgarden *et al.*, 2005), de l'adaptation à l'eau de mer et de la réponse immunitaire (Björnsson *et al.*, 2002). De plus, IGF-I joue un rôle primordial dans la maturation sexuelle, en stimulant le développement gonadique (Le Gac *et al.*, 1993; Duan et Xu, 2005; Morita et Fukuwaka, 2006). Sachant que plusieurs études ont établi des liens entre croissance et maturité sexuelle chez les salmonidés (Shearer et Swanson, 2000; Wilson *et al.*, 2003), l'implication d'IGF-I dans la régulation de ces deux composantes revêt un intérêt particulier dans la comparaison des stratégies migratrices. De plus, l'action d'IGF-I semble relativement rapide et prolongée. Ainsi, l'IGF-I libéré dans le plasma se lie à des protéines ayant une affinité élevée pour les IGF (IGFBP) (Duan, 1997; Shimizu *et al.*, 1999; Duan, 2002). Ces protéines augmentent considérablement la demi-vie d'IGF-I (de moins de 10 minutes à 12-15 heures) (Jones et Clemmons, 1995) et contrôlent sa disponibilité pour les récepteurs membranaires auxquels il se lie (Shimizu *et al.*, 1999).

Compte tenu de son rôle déterminant dans la régulation de fonctions importantes, plusieurs études de l'expression du gène d'IGF-I par PCR en temps réel ont été effectuées chez les salmonidés (Pierce *et al.*, 2004; Pierce *et al.*, 2005; Côté *et al.*, 2007). Toutefois, ces études visaient principalement à documenter les variations temporelles de l'expression du gène d'IGF-I, sans tenir compte de différences potentielles d'expression entre individus adoptant des stratégies migratrices distinctes au sein d'un système donné. Plusieurs

questions quant à l'expression du gène d'IGF-I chez l'omble de fontaine ou d'autres salmonidés demeurent donc encore sans réponse. L'une de ces questions est celle de savoir si l'expression du gène d'IGF-I varie chez des populations utilisant des stratégies migratrices différentes (anadromie ou résidence). Giger *et al.* (2006), par l'entremise d'analyses d'échantillons de foie de truite brune (*Salmo trutta*) à l'aide de biopuces (900 ADNc), ont mis en évidence des différences d'expression entre résidents et anadromes. Cette étude n'a toutefois pas permis de déterminer si de telles différences d'expression entre anadromes et résidents s'appliquent également au gène d'IGF-I. Enfin, aucune étude, à notre connaissance, n'a encore porté sur l'estimation des bases génétiques, notamment l'héritabilité, de l'expression d'IGF-I. Ceci est particulièrement d'intérêt dans le contexte d'une étude comparative entre populations divergentes, dans l'optique de mieux comprendre le potentiel de réponse de ce trait à la sélection naturelle.

Dans ce contexte, l'objectif principal de notre étude était de comparer des profils d'expression d'IGF-I entre les populations anadrome et résidente d'ombles de fontaine de la rivière Laval, afin de déterminer si ce gène pouvait être impliqué dans la régulation physiologique propre à chacune d'elles. Nous avons donc utilisé une approche d'élevage identique de la fécondation jusqu'à l'âge de 1+, afin d'évaluer leur capacité à répondre physiologiquement à un premier contact avec le milieu marin. En plus d'évaluer l'héritabilité de l'expression d'IGF-I, nous avons inclus la production d'hybrides réciproques dans notre schéma expérimental pour vérifier la présence d'effets génétiques

additifs ou parentaux pour les traits physiologiques étudiés, et ainsi déterminer si les traits physiologiques étudiés présentaient une base génétique importante.

MÉTHODOLOGIE

Design expérimental et conditions d'élevage

La descendance de 12 ombles de fontaine mâles et 23 ombles de fontaine femelles provenant de la rivière Laval (Québec, Canada) a été utilisée dans cette étude, tel que décrit par Perry *et al.* (2005). Deux souches pures ont été utilisées. Les anadromes (AA) utilisés étaient les rejetons de troisième génération d'ombles de fontaine de la souche Laval. Ils étaient les rejetons de six mâles et 12 femelles maintenus à la Station aquacole de Pointe-au-Père, au Québec (48° 31' N, 68° 29' W). Les résidents étaient les rejetons de six mâles et 12 femelles sauvages capturés durant les étés de 2001 et 2002 dans le ruisseau Adam, un affluent de la rivière Laval. Deux types d'hybrides réciproques ont été produits, l'un avec des femelles anadromes et des mâles résidents (AR), et l'autre avec des femelles résidentes et des mâles anadromes (RA). Un total de 19 familles plein-frère a été utilisé, soit cinq au sein de trois des types de croisements et quatre au sein du groupe des hybrides RA. Tous les poissons utilisés pour les expériences étaient âgés de plus d'un an et ont été élevés dans des conditions similaires de la période d'incubation des œufs jusqu'à l'atteinte de la maturité sexuelle à la Station aquacole de Pointe-au-Père. La progéniture de chaque femelle a été élevée dans des compartiments séparés, mais l'environnement au sein du dispositif expérimental global a été rigoureusement contrôlé (12h:12h photopériode L:D à 4°C jusqu'à l'éclosion, puis aux températures ambiantes (7–8°C) à partir de la première alimentation exogène.

Lorsque les poissons ont atteint le stade d'alimentation exogène (en mai), le nombre de poissons a été standardisé parmi les familles (700 individus). Chaque famille a été isolée par des séparateurs au sein des réservoirs des juvéniles, jusqu'à ce que les poissons atteignent approximativement 4,0 g. Par la suite, les familles ont été regroupées aléatoirement dans des réservoirs circulaires de 500 L; leur identification a été rendue possible par l'utilisation de différentes combinaisons de marquages des nageoires pelviennes et/ou adipeuse. Toutes les familles au sein des réservoirs ont été régulièrement inspectées pour maintenir de bonnes conditions au sein des réservoirs d'élevage (< 30 kg de poisson par m³; Pennell et Barton, 1996). Les marquages de nageoires ont été vérifiés tous les 3-4 mois, et les poissons non identifiables ont été rejetés. Les poissons ont été élevés en eau douce dans des conditions naturelles de photopériode et de température (la température minimale, soit 2,0°C, a été atteinte en février; la température maximale, de 15,0°C, en septembre). La longueur et la masse corporelle ont été mesurées périodiquement pour déterminer la croissance. Les poissons ont été nourris avec des moulées commerciales, et la ration quotidienne a été ajustée selon la taille du poisson et la température de l'eau. Lorsque les poissons ont atteint l'âge de 17 mois, ils ont été graduellement transférés (2‰ jour⁻¹) en eau de mer provenant de l'estuaire (salinité finale de 20‰) pour l'été (de juin à août). Trois temps d'échantillonnage ont été utilisés dans le cadre cette étude: 1) à la mi-juin en eau douce et avant transfert en eau de mer; 2) 10 jours plus tard, après une augmentation graduelle de la salinité jusqu'à 20 ‰; 3) au moment où les poissons sont retournés en eau douce à la mi-août. Un total de 10 individus par famille, au sein de chacune des 19 familles, ont été échantillonnés aléatoirement, et ce durant chacun des temps d'échantillonnage. Le

foie et le muscle épaxial de chaque poisson échantillonné ont été disséqués et entreposés à -80°C.

Extraction de l'ARN

Des échantillons de foie de 0.025 g ont été broyés et mélangés avec 1,0 ml de réactif de trizol (Invitrogen), au moyen d'un broyeur de tissus. 200 µl de chloroforme (Invitrogen) ont été ajoutés à chacun des échantillons avant la centrifugation de ces derniers à 4°C et 12 000 rpm durant 15 minutes. Un volume de 1,0 ml d'isopropanol (Sigma-Aldrich) a été ajouté à la phase aqueuse. Les échantillons ont été entreposés jusqu'au lendemain à -80°C. Par la suite, les échantillons ont été centrifugés à 4°C et 13 000 rpm durant 60 minutes. Le surnageant a été aspiré à l'aide d'une pompe sous vide, et le culot a été nettoyé avec 1,0 ml d'éthanol 70% (Sigma-Aldrich). L'éthanol a ensuite été aspiré et le culot séché durant 15 minutes à la température de la pièce. Le culot asséché a été resuspendu dans 40,0 µl d'eau sans RNase (Ambion) et exposé à 1.0 µl de superase in (Ambion).

Purification de l'ARN et traitement à la DNase I

Les échantillons d'ARN ont été purifiés à l'aide de micro-colonnes (microcons) (Fisher Scientific). Ces microcons ont été centrifugés avec 100,0 µl d'eau sans RNase à 14 000 g durant 15 minutes. Ensuite, 35,0 µl de chaque échantillon d'ARN ont été transférés dans les microcons, élués avec 170,0 µl d'eau sans RNase, et centrifugés à 14 000 g durant

20 minutes; l'étape d'éluion a ensuite été répétée. Le filtre de chaque microcon et 30,0 µl d'eau sans RNase ont ultérieurement été transférés dans un autre microcon et centrifugés à 4000 g durant 4 minutes. Tous les échantillons d'ARN ont été incubés durant 35 minutes à la température de la pièce avec 2,0 µl de désoxyribonucléase I (Invitrogen) et 3,0 µl de tampon 10X pour désoxyribonucléase I (200 mM de Tris-HCl à pH 8,4, 20 mM de MgCl₂ et 500 mM de KCl) afin d'éliminer toute contamination par de l'ADN génomique. Les échantillons ont été incubés avec 3,0 µl d'EDTA 25 mM, durant 10 minutes à 65°C, pour interrompre la réaction de la désoxyribonucléase.

Transcription inverse et PCR en temps réel

Les échantillons d'ARN ont été dilués avec de l'eau sans RNase à une concentration de 0,100 µg d'ARN/µl dans un volume de 20,0 µl. Un volume de 20,0 µl de master mix (4,0 µl de tampon de transcription inverse 10X, 1,6 µl de dNTP 25X, 4,0 µl d'amorces aléatoires 10X, 2,0 µl de transcriptase inverse MultiScribe™ à 50 U/µl et 8,4 µl d'H₂O sans nucléase), provenant d'une trousse de transcription inverse ADNc (Applied Biosystems), a été ajouté à chaque échantillon, pour un volume final de réaction de 40,0 µl. Toutes les réactions de transcription inverse ont été effectuées sur un thermocycleur GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems), avec les profils thermiques suivants: 10 min à 25°C, 120 min à 37°C et 5 sec à 85°C. Tous les échantillons ont été conservés à -20°C jusqu'aux analyses de PCR en temps réel. Les sondes et amorces TaqMan™ MGB pour le gène d'IGF-1 ont été produites par Applied Biosystems. Toutes les réactions ont été effectuées

au moyen d'un système de détection de séquences ABI Prism 7500 (Applied Biosystems). Les amorces d'ARNm d'IGF-I d'ombles de fontaine ont été élaborées par Côté *et al.* (2007). Le gène de référence utilisé pour la quantification relative par PCR en temps réel fut le gène de la sous-unité 18S de l'ARNr (Applied Biosystems). Les profils d'expression géniques ont été mesurés avec la méthode de quantification relative des $2^{-\Delta\Delta C_T}$, permettant de comparer l'expression du gène étudié à celle du gène de référence, telle que décrite par Côté *et al.* (2007), avec des modifications mineures. Pour tous les groupes d'amorces/sondes, les efficacités d'amplification ont été calculées selon les instructions du manufacturier, et toutes les valeurs se sont avérées suffisantes pour comparer directement les profils d'amplification (voir le document intitulé "Sequence Detection Systems Quantitative Assay Design and Optimization", d'Applied Biosystems). Chaque réaction (25.0 μ l) a été lancée en triplicata et contenait 5.0 μ l d'ADNc (dilué 1:5 pour le gène ciblé et 1:5000 pour le gène d'ARNr 18S), 12,5 μ l de master mix Taqman Universal PCR (Applied Biosystems) et 0,9 μ M d'amorces F/R. Le profil thermocyclique utilisé était celui sélectionné par défaut par le logiciel SDS 3.1.3 (50°C durant 2 min, 95°C durant 10 min, puis 40 cycles à 95°C durant 15 sec, et à 60°C durant 1 min).

Analyse des données

Des tests de Kolmogorov-Smirnov et de Brown-Forsythe ont été effectués pour vérifier la normalité des données (K-S) et l'homoscédasticité des variances (B-F). Les niveaux d'expression d'IGF-1 en fonction du croisement, du sexe et du temps

d'échantillonnage ont été analysés à l'aide d'analyses de variance (ANOVA). Des tests de Tukey ont été utilisés en guise d'analyses *a posteriori* lorsque les ANOVA indiquaient des effets significatifs, et que les variances étaient homogènes. Des tests de Games-Howell ont été utilisés à la place des tests de Tukey lorsque les variances étaient hétérogènes. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées avec la version 6.0 de Statistica pour Windows (StatSoft, Tulsa, OK, USA).

Les valeurs d'héritabilité de l'expression d'IGF-I ont été calculées avec la version 2.0 du logiciel ASREML (VSN International Ltd., Royaume-Uni). Le modèle utilisé était $Y_i = \mu + A_i + e$, où Y est la variable mesurée, μ est la moyenne, A est l'effet additif aléatoire et e est le vecteur associé à l'erreur aléatoire. Les valeurs d'héritabilité ont seulement été quantifiées chez les souches pures, séparément pour chacune d'elles et seulement pour les niveaux d'expression des ombles échantillonnés à la fin juin, après leur transfert en eau de mer. ASREML a également été utilisé pour déterminer les valeurs reproductives estimées (EBV, mérite génétique additif; Mrode 2005) et les effets parentaux (maternels et paternels). Ces derniers ont été estimés par le ratio de la variance génétique additive des mères (ou des pères) des ombles anadromes, résidents et hybrides sur la variance phénotypique. Le modèle utilisé pour déterminer les effets parentaux était $Y_i = \mu + A_i + M_i + P_i + e$, où Y est la variable mesurée, μ est la moyenne, A est l'effet additif aléatoire, M est l'effet maternel, P est l'effet paternel et e est le vecteur associé à l'erreur aléatoire. Les

effets parentaux ont été mesurés sur l'ensemble des individus échantillonnés à la fin juin (anadromes, résidents et hybrides réciproques).

RÉSULTATS

En juin (jour 0), l'expression relative d'IGF-1 ne différait pas significativement d'un croisement à l'autre (Fig. 1.1). Après 14 jours en eau de mer, l'expression d'IGF-1 s'est avérée significativement plus élevée chez les ombles RR et hybrides RA par rapport au niveau observé en eau douce (Croisement x Temps: $df = 6$; $F = 7.03$; $p < 0.001$). Au contraire, aucune augmentation significative de l'expression d'IGF-I n'a été détectée pour les anadromes et les hybrides AR. Enfin, la même tendance temporelle générale était présente chez les quatre croisements (Fig. 1.1). Par exemple, à la fin de l'été, l'expression relative d'IGF-I diminuait par rapport à l'expression après le transfert en eau de mer pour tous les types de croisements, et atteignait même un niveau plus faible qu'avant transfert en eau de mer chez les souches pures.

Malgré un patron d'expression similaire, les valeurs d'héritabilité d'IGF-I après le transfert en eau de mer étaient élevées chez les anadromes ($h^2 = 0,58 \pm 0,38$) mais nulles chez les résidents ($h^2 = 0,00 \pm 0,00$). La variance des EBV s'est avérée faible chez les deux souches pures (respectivement 0,34 et 0,00, chez les anadromes et les résidents). Aucun effet de l'origine de la mère ou du père n'a été observé pour l'expression d'IGF-I après le transfert en eau de mer, puisque le ratio de la variance des mères ou des pères sur la variance phénotypique était faible (respectivement $0,02 \pm 0,05$ et $0,12 \pm 0,20$).

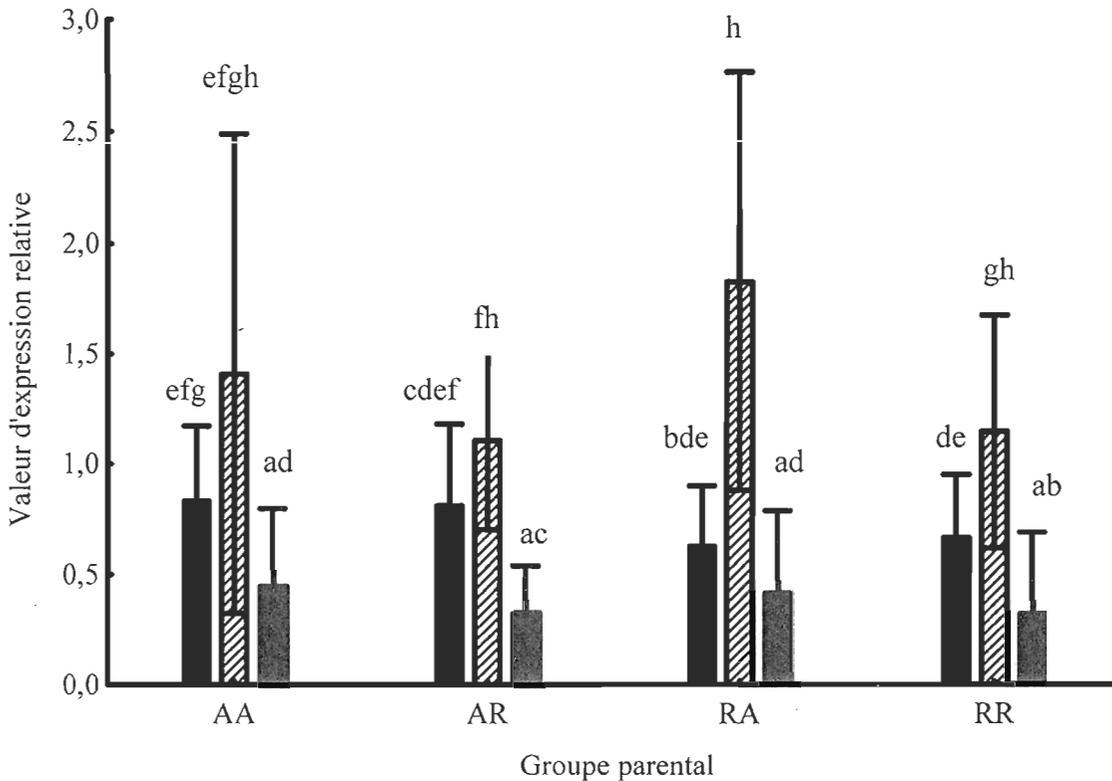


Figure 1.1. Expression d'IGF-1 chez des ombres anadromes (AA), résidents (RR) et hybrides (AR, RA) 1⁺ avant leur transfert en eau de mer (en noir), après 14 jours en eau de mer (en noir hachuré), et à la fin de l'été (en gris). Les valeurs exprimées sont les moyennes \pm l'erreur-type. Les lettres indiquent la présence de différences significatives entre les croisements et d'un temps d'échantillonnage à l'autre ($p < 0.05$).

Des effets familiaux significatifs ont été observés ($df = 15$; $F = 4.27$; $p < 0.001$). Pour chaque croisement, l'intensité de la réponse variait d'une famille à l'autre, et ce lors de chacun des trois temps d'échantillonnage (Fig. 1.2). L'expression d'IGF-I était globalement 1.3 fois plus élevée chez les mâles ($0,94 \pm 0,69$) que chez les femelles ($0,72 \pm$

0,65) ($df = 1$; $F = 13,29$; $p < 0,01$), mais aucune interaction entre le sexe et les autres facteurs n'a été observée (Temps x Sexe : $df = 2$; $F = 1,39$; $p > 0,05$; Croisement x Temps : $df = 3$; $F = 2,46$; $p > 0,05$; Croisement x Temps x Sexe : $df = 6$; $F = 1,96$; $p > 0,05$).

Figure 1.2. Expression d'IGF-1 par famille chez des ombres anadromes (AA), résidents (RR) et hybrides (AR, RA) 1⁺ avant leur transfert en eau de mer, après 14 jours en eau de mer, et à la fin de l'été. Les valeurs exprimées sont les moyennes \pm l'écart-type. Chaque barre noire représente une famille. Pour les croisements et les temps d'échantillonnage présentant des effets familiaux significatifs, des lettres ont été ajoutées pour indiquer les différences inter-familiales, des lettres différentes indiquant la présence de différences significatives ($p < 0.05$).

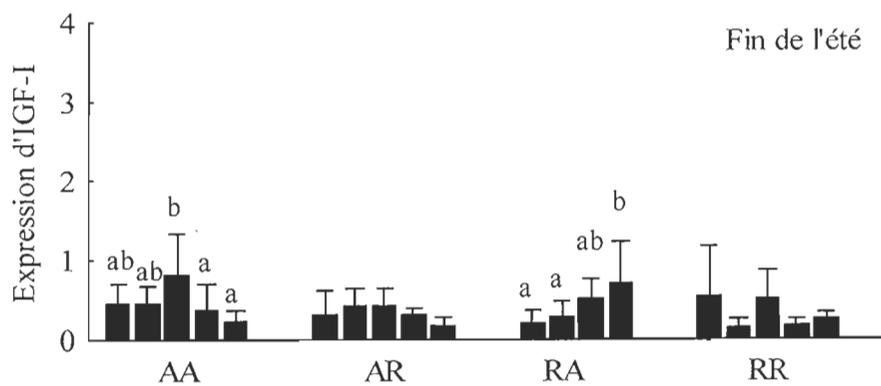
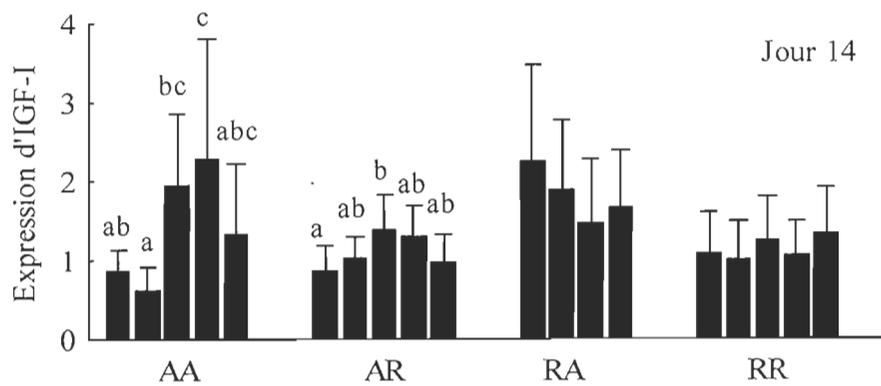
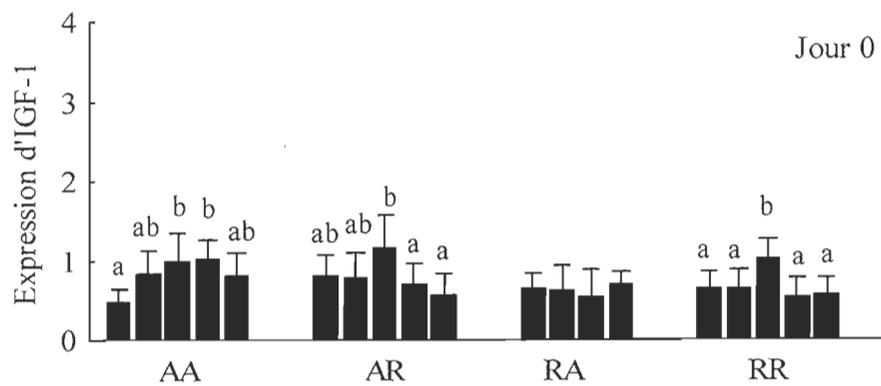


Figure 1.2. Expression d'IGF-1 par famille chez des ombres anadromes (AA), résidents (RR) et hybrides (AR, RA) 1⁺ avant leur transfert en eau de mer, après 14 jours en eau de mer, et à la fin de l'été. Les valeurs exprimées sont les moyennes \pm l'écart-type. Chaque barre noire représente une famille. Pour les croisements et les temps d'échantillonnage présentant des effets familiaux significatifs, des lettres ont été ajoutées pour indiquer les différences inter-familiales, des lettres différentes indiquant la présence de différences significatives ($p < 0.05$).

leur permettre de compléter leur acclimatation à l'eau de mer. Une augmentation de l'expression d'IGF-I est généralement associée à une augmentation de la tolérance à l'eau de mer (Seidelin et Madsen, 1999; McCormick, 2001). En effet, IGF-I favorise une augmentation de la sécrétion des ions après un transfert en eau de mer chez les salmonidés (McCormick, 2001; Nilsen *et al.*, 2008). Il est plausible que l'augmentation significative de l'expression chez les résidents soit le signe d'un effort physiologique plus élevé que chez les anadromes? Ainsi, Bastien (2010), qui a utilisé les mêmes croisements pour étudier plus en détail la réponse osmorégulatrice, a noté une hausse marquée de l'osmolarité plasmatique chez les résidents (3,9 %), mais non chez les anadromes (2,6%).

Dans une étude effectuée par Côté *et al.* (2007), des ombles de fontaine provenant de la rivière Rupert et résidents en eau douce n'ont présenté aucun changement notable d'expression d'IGF-I dans le foie entre les milieux d'eau douce et d'eau salée. Toutefois, une plus forte expression du gène de GHR (récepteur de l'hormone de croissance) chez les ombles élevés en eau salée que chez ceux élevés en eau douce a été observée par ces auteurs, en dépit d'une croissance nettement inférieure en eau salée (Côté *et al.*, 2007). Côté *et al.* (2007) ont interprété ces résultats comme un investissement énergétique relatif plus important pour produire la même quantité de tissu chez les ombles élevés en eau de mer. Ces résultats ont amené les auteurs à suggérer que les ombles de la rivière Rupert avaient partiellement perdu leur capacité d'osmorégulation en eau salée, probablement en raison d'une architecture génétique inadéquate pour la tolérance à l'eau de mer (c'est-à-dire

un niveau insuffisant d'expression des gènes impliqués dans les mécanismes d'adaptation à l'eau de mer, tels que ceux d'IGF-I et de la Na^+/K^+ ATPase, avant même que le passage à l'eau de mer ne se produise) (Côté *et al.*, 2007). Chez les salmonidés, IGF-I augmente l'activité branchiale de la Na^+/K^+ ATPase (Madsen et Bern, 1993; McCormick, 2001). Cependant, Bastien (2010) a plutôt constaté une baisse de l'activité branchiale de la Na^+/K^+ ATPase après le transfert en eau de mer chez les résidents et l'absence de changement d'activité chez les anadromes. Plusieurs études récentes démontrent en fait que des isoformes différentes seraient activées en eau douce et en eau de mer (Richards *et al.*, 2003; Ojima *et al.*, 2009) et conséquemment, une conclusion sur les résultats obtenus en regard de l'absence d'une hausse d'activité enzymatique corrélée à une hausse de l'expression d'IGF-I nécessiterait l'étude de l'activité de ces différentes isoformes.

À la fin de l'été, l'expression d'IGF-I était plus faible chez tous les groupes en dépit d'une croissance significative durant cette période, ce qui suggère que les réponses observées sont plutôt corrélées à la réponse au changement de salinité du milieu qu'à des performances de croissance différentes. Il faut cependant noter que la corrélation entre les niveaux plasmatiques d'IGF-I et le taux de croissance n'est pas toujours positive chez les téléostéens (Silverstein *et al.*, 1998; Eppler *et al.*, 2007). Il est maintenant généralement admis que la relation entre la production/sécrétion d'IGF-I et le taux de croissance change au fil du temps chez les salmonidés, à l'échelle saisonnière (Beckman *et al.*, 1998), hebdomadaire (Cameron *et al.*, 2007), ou même quotidienne. En outre, la demi-vie

biologique d'IGF-I dans le plasma est grandement accrue, et son activité biologique est altérée par sa liaison à des protéines de liaison à IGF (IGFBP; Jones et Clemmons, 1995). Cela est susceptible de provoquer un délai significatif entre la libération d'IGF-I par le foie et la croissance corporelle. IGF-I est également impliqué dans la régulation du métabolisme énergétique (Aas-Hansen *et al.*, 2005) et la réponse immunitaire (Moriyama *et al.*, 2000), et nos résultats d'expression pourraient avoir été influencés par ces fonctions. Cependant, le fait que des différences d'expression hépatique d'IGF-I entre des milieux d'eau douce et d'eau salée aient été observées dans le cadre de notre étude, mais pas par d'autres auteurs (Sakamoto et Hirano, 1993; Côté *et al.*, 2007), suggère que, tout comme la nature du tissu étudié, l'origine génétique des poissons étudiés influence l'expression des gènes impliqués dans l'osmorégulation. Dans le cadre de notre étude, les différences observées dans les profils d'expression d'IGF-I avant et après transfert en eau de mer chez les ombles anadromes et résidents, ainsi que chez les deux types d'hybrides réciproques, ajoutent des preuves additionnelles à l'effet qu'il existe une différenciation génétique entre les anadromes et les résidents de la rivière Laval. Cependant, l'utilisation des hybrides réciproques a permis de mettre en lumière l'absence d'effets paternels ou maternels dans l'expression de ce trait physiologique. Toutefois, les différences significatives d'expression entre les deux types d'hybrides, qui n'étaient pas prévues, suggèrent que les profils d'expression d'IGF-I chez l'omble de fontaine sont influencés par le type de croisement effectué.

Des recherches sur plusieurs espèces de salmonidés ont montré des divergences ayant une base génétique pour des traits quantitatifs liés à l'anadromie ou la résidence en eau douce, incluant l'omble de fontaine (Heath *et al.*, 2002; Perry *et al.*, 2004; Perry *et al.*, 2005), probablement en raison des pressions sélectives divergentes subies par les individus anadromes et résidents. Les différences d'expression d'IGF-I hépatique observées entre les croisements dans le cadre de notre étude sont probablement d'origine génétique, tous les croisements ayant été élevés dans les mêmes conditions expérimentales. Les analyses de génétique quantitative effectuées indiquent une héritabilité significative pour l'expression d'IGF-I chez les anadromes, mais pas chez les résidents. Les valeurs d'EBV chez les résidents étaient également pratiquement nulles. Ceci laisse entendre que ce trait ne présente que peu de potentiel de réponse à la sélection chez les résidents, contrairement à ce que l'on observe chez les anadromes. Les réponses physiologiques des ombles résidents suggèrent cependant que ces derniers ont tout de même conservé la capacité de s'acclimater à l'eau de mer, conformément aux résultats obtenus précédemment chez une souche domestique d'eau douce (Claireaux et Audet, 2000).

La variance d'expression au sein du groupe anadrome était plus élevée que celle observée chez les résidents, ce qui se reflète dans les différences interfamiliales généralement plus importantes pour ce croisement particulier. Ces observations corroborent ainsi les différences de valeurs d'héritabilité mesurées pour les deux formes. Les différences d'expression d'IGF-I entre les familles, avant et après le transfert en eau de mer

et après le retour des poissons en eau douce, pourraient être liées à plusieurs traits physiologiques comme la masse corporelle, le taux de croissance moyen et l'indice hépatosomatique. Il faut toutefois mentionner que, pour chaque temps d'échantillonnage, certains croisements n'ont présenté aucune différence interfamiliale, peut-être en raison de la variance d'expression élevée des familles au sein de ces groupes. L'importance de la variation individuelle, qui peut être considérable, ne doit donc pas être négligée, ainsi que d'autres auteurs l'ont affirmé (Oleksiak *et al.*, 2005; Crawford et Oleksiak, 2007).

Comme dans la présente étude, Côté *et al.* (2007) ont observé que l'expression d'IGF-I était plus élevée chez les mâles que chez les femelles. Des différences d'expression hépatique d'IGF-I entre les sexes ont également été observées chez le tilapia (*Oreochromis mossambicus*) (Riley *et al.*, 2002; Davis *et al.*, 2008). Les stéroïdes sexuels pourraient influencer l'expression d'IGF-I et expliquer de telles différences entre mâles et femelles. Ainsi, il est connu que les androgènes stimulent, alors que les oestrogènes diminuent, l'expression hépatique d'IGF-I chez les poissons (Riley *et al.*, 2002; Riley *et al.*, 2004; Davis *et al.*, 2007; Filby *et al.*, 2007).

Conclusions et perspectives

L'axe GH/IGF-I exerce ses fonctions par l'entremise d'un réseau fort complexe d'interactions (Beckman *et al.*, 1998; Björnsson *et al.*, 2002), et les profils d'expression du

gène d'IGF-I obtenus dans le cadre de cette étude reflètent assurément cette complexité. En effet, ces profils d'expression ont varié en fonction de plusieurs facteurs, tels que le type de croisement, la famille, le sexe et le temps d'échantillonnage. Néanmoins, malgré l'effet de ces différents facteurs, les ombles anadromes et résidents ont présenté des différences nettes de profils d'expression avant et après leur transfert en eau de mer, ce qui suggère des différences de tolérance à la salinité, qui pourraient résulter d'une divergence adaptative entre ces deux formes (Perry et al. 2005). Par ailleurs, l'expression d'IGF-I semble posséder une base génétique et un potentiel de réponse à la sélection importants chez les anadromes seulement, ainsi que l'indiquent les valeurs d'héritabilité élevées pour cette souche pure. Les effets génétiques sous-tendant l'expression d'IGF-I chez les anadromes après le transfert en eau de mer n'étaient vraisemblablement pas de nature parentale. Le fait que les deux types d'hybrides réciproques aient présenté des différences d'expression d'IGF-I marquées durant la même période suggère également l'importance de la direction de croisement. Des différences interfamiliales ont été observées au sein de plusieurs croisements, mais pas tous, durant les trois temps d'échantillonnage. Enfin, l'expression d'IGF-I était généralement plus élevée chez les mâles que chez les femelles. Des projets de recherche futurs, en continuité de celui-ci, devraient mettre l'accent sur les mécanismes post-transcriptionnels liés à IGF-I, afin d'améliorer notre compréhension globale des processus biochimiques contrôlant l'évolution de cette molécule, de la transcription du gène à la sécrétion d'IGF-I dans le plasma.