

Numéro d'agrément du laboratoire	
Numéro de projet de la commission d'éthique	2020-71
Titre scientifique du projet	
Titre non-technique du projet	Impact de la perméthrine, un pesticide neurotoxique, sur les comportements, les taux hormonaux et l'expression des gènes du cerveau chez le rivulus des mangroves <i>Kryptolebias marmoratus</i> .
Date d'autorisation du projet par la commission d'éthique	10/12/20
Durée du projet (date de début et de fin)	01/01/2021 au 31/12/2021
Le projet fera l'objet d'une analyse rétrospective (oui/non) et dans quel délai	Oui
Mots Clés (maximum 10 mots / 100 caractères)	Plasticité phénotypique – perméthrine – neurotoxicité – comportement – hormones – épigénétique – <i>Kryptolebias marmoratus</i>
Objectif du projet	<p>Recherche fondamentale : oui</p> <p>Recherches translationnelle ou appliquée : non</p> <p>Test réglementaire et production de routine : non</p> <p>Protection de l'environnement naturel dans l'intérêt de la santé ou du bien-être de l'homme ou de l'animal : oui</p> <p>Conservation des espèces : non</p> <p>Enseignement supérieur ou formation : non</p> <p>Enquête médico-légale : non</p> <p>Maintien de colonies d'animaux génétiquement modifiés, non utilisés dans d'autres expériences : non</p> <p>Maintien de colonies d'animaux génétiquement modifiés, non utilisés dans d'autres expériences : non</p>
Décrivez les objectifs du projet (par exemple, les inconnues scientifiques ou les nécessités scientifiques ou cliniques concernées) (1000 caractères maximum)	Explorer les effets d'un insecticide couramment utilisé dans l'agriculture et les usages domestiques sur la plasticité comportementale (reflétant sa capacité à adapter son comportement au changement des conditions environnementales) des larves et des adultes du poisson <i>Kryptolebias marmoratus</i> . Identifier les éventuelles modifications physiologiques et (épi)génétiques de l'ADN induites.

Quels sont les avantages potentiels susceptibles de découler de ce projet (quelles avancées de la science pourraient-elles être attendues ou comment les humains, les animaux ou les plantes pourraient-ils bénéficier du projet)? (1000 caractères maximum)	Ce projet nous permettra de caractériser et de mieux comprendre les facteurs jouant un rôle dans la plasticité développementale du comportement chez un poisson à très faible variabilité génétique. En étudiant l'effet de la perméthrine, une neurotoxine largement utilisée comme insecticide et présente abondamment dans l'environnement d'espèces non-cibles, nous pourrions également évaluer l'impact négatif éventuel de cette neurotoxine sur les populations naturelles.
Quelles sont les espèces animales qui seront utilisées ?	Le rivulus des mangroves <i>Kryptolebias marmoratus</i>
Quel est le nombre maximal d'animaux ?	450
Dans le contexte de ce qui est fait aux animaux, quels sont <u>les effets négatifs attendus</u> sur les animaux, <u>le niveau de gravité</u> probable ou attendu et <u>le sort</u> des animaux?	Nous considérons le niveau d'inconfort comme modéré car l'expérience implique d'éventuels changements de comportement, de certains traits physiologiques et de l'expression des gènes face au stress chimique induit par la perméthrine
Application des 3Rs	
1. Remplacement (1000 caractères maximum)	
Indiquez pourquoi des animaux doivent être utilisés et pourquoi des alternatives n'utilisant pas d'animaux ne peuvent être utilisées	Cette étude est spécifique et adaptée au rivulus des mangroves <i>Kryptolebias marmoratus</i> . Elle implique l'analyse d'une réponse complète de l'organisme (phénotype, métabolisme global et comportements), et ne peut donc pas être remplacée par des alternatives non animales ni même par des espèces alternatives. La spécificité de ce poisson étant de se reproduire par autofécondation et donc de produire des individus isogéniques, il représente actuellement le meilleur modèle de vertébré dans l'étude du rôle des mécanismes épigénétiques dans l'expression phénotypique liée à un stress environnemental, en contrôlant pour le facteur génotypique. Les tests comportementaux et les analyses physiologiques et morphologiques permettront d'évaluer les changements phénotypiques liés à ce stress environnemental.
2. Réduction (1000 caractères maximum) Expliquez comment l'utilisation d'un nombre minimum d'animaux est garantie	Le logiciel G Power a été utilisé afin de calculer <i>a priori</i> le nombre d'individus nécessaires pour étudier l'effet de l'exposition à la perméthrine sur le killifish. Ce test demande de spécifier quelle famille de test et quel test statistique sera effectué. Ainsi, la taille d'échantillon total sortant va de 129 à 159 individus, répartis en trois groupes (2 doses et un contrôle) soit 43 individus à 53 individus par condition expérimentale. Le N choisi est donc de 50 individus / condition.
3. Raffinement (1000 caractères maximum) Expliquez le choix des espèces animales et pourquoi le(s) modèle(s) animal(aux) utilisé(s) sont les plus raffinés, eu égard aux objectifs scientifiques	Le rivulus des mangroves, <i>Kryptolebias marmoratus</i> est le seul vertébré hermaphrodite capable d'autofécondation et peut donc produire, après plusieurs cycles d'autofécondation, une lignée hautement homozygote et isogénique. Le rivulus exprime donc une très faible variabilité génétique au sein d'une même lignée. L'utilisation de ce poisson permet donc de réduire la variabilité génétique lors d'une expérience et de se focaliser sur l'influence de l'environnement sur la variabilité phénotypique. Une autre caractéristique du rivulus faisant de lui un modèle idéal pour la présente étude est qu'il est capable d'exprimer de la variabilité comportementale conséquente en présence d'une très faible variabilité génétique. Ainsi, cette espèce permet de rechercher les bases hormonales et moléculaires de cette variabilité phénotypique. Le choix d'exposer <i>K. marmoratus</i> à la perméthrine est écologiquement pertinent car cette neurotoxine est largement utilisée partout dans le

	monde, notamment comme insecticide, et se retrouve en quantité non-négligeable sur les côtes de Floride où se trouve son lieu de vie.
Expliquez les mesures qui seront prises pour minimiser les effets négatifs sur le bien-être des animaux (douleur, souffrance, inconfort ou dommages permanents).	Toutes les manipulations seront effectuées en minimisant le stress pour les animaux. Les observations morphologiques et comportementales seront effectuées à l'aide des méthodes indirectes (caméra vidéo + écran) afin d'éviter toute influence sur les individus durant l'expérience. Les hormones seront collectées via une méthode non-invasive, en prélevant des échantillons dans l'eau et non directement à partir du plasma des poissons. Les poissons sont euthanasiés par overdose d'anesthésiant MS222 (150µg/L), produit réputé pour limiter au maximum le stress.