



**INDICATEURS PHYSIOLOGIQUES DE CROISSANCE ET
DU MÉTABOLISME CHEZ DES POISSONS D'INTÉRÊT
COMMERCIAL : UNE APPROCHE TRANSCRIPTOMIQUE**

Thèse présentée

dans le cadre du programme de doctorat en océanographie

en vue de l'obtention du grade de *Philosophiæ doctor*

PAR

© MARIA ANGELICA MARTINEZ-SILVA

Janvier 2022

Composition du jury :

Réjean Tremblay, président du jury, Université du Québec à Rimouski

Céline Audet, directrice de recherche, Université du Québec à Rimouski

Marie Vagner, codirectrice de recherche, UBO/LEMAR France

David Mazurai, examinateur externe, UBO/LEMAR France

Dépôt initial le 25 octobre 2021

Dépôt final le 17 janvier 2022

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

À mes parents et à Santi pour son
soutien sans faille

REMERCIEMENTS

Je n'ai pas de mots pour commencer à remercier tant de personnes qui ont rendu possible que cette thèse ait vu le jour, comme l'a bien dit Céline. C'est pourquoi c'est elle la première personne que je veux remercier. À ma directrice Céline Audet qui a créé un projet de doctorat pour que je puisse continuer à faire partie de son équipe. Pour les innombrables enseignements tout au long de ces quatre ans plus les deux de maîtrise, sa disponibilité infinie et un accompagnement constant pendant toutes les étapes du projet. Merci d'avoir eu confiance en moi et de m'avoir poussée à ne pas abandonner, à avoir eu confiance en mon travail et à m'avoir donné le courage de continuer quand je pensais que je n'en n'avais plus la force. Tu es le modèle de femme scientifique et de professeure que je veux devenir un jour, avec cette passion indéniable et cet amour de toujours mettre mes mains dans l'eau.

À ma co-directrice, Marie Vagner, qui a été un soutien inconditionnel quand j'étais à Brest, et tout au long de ces quatre années. Mille mercis pour tous tes conseils, tes suggestions et tes contributions qui ont grandement enrichi mon travail. Merci de m'avoir permis de faire partie de tes projets sur le terrain et en laboratoire, ainsi que de m'avoir ouvert les portes du LEMAR où j'ai appris une forme différente de recherche collaborative.

Je voudrais également remercier mes coauteurs, Danny Garant, Carolyne Houle, Aurelie Dupont-Prinet, Louis Bernatchez et Caroline Senay d'avoir accepté de collaborer à ce projet et d'avoir enrichi cette recherche.

De même, Rejean Tremblay en tant que président du jury et David Mazurais en tant que membre externe pour avoir accepté d'évaluer mon travail et pour leurs précieux commentaires et questions lors de la soutenance de cette thèse.

Je voudrais souligner tout particulièrement l'ensemble du personnel de l'ISMER, en particulier Martine Belzile qui m'a toujours accueillie dans son bureau avec un sourire, ainsi que Nancy Lavergne, Marielle Lepage et Brigitte Dubé. Vous êtes sans aucun doute le cœur de l'ISMER.

A tout le personnel de soutien de l'ISMER, Dominique Lavallée, Mélanie Simard, Pascal Rioux, ainsi que Kim Dorion et Mathieu pour leur aide infinie au laboratoire, surtout quand j'arrivais parfois en panique à cause d'un problème de laboratoire.

Je voudrais également remercier l'équipe du laboratoire de génomique de l'IML, Geneviève Parent, Éric Parent et Grégoire Cortial pour leur soutien dans la phase de séquençage, ainsi que tous ceux qui ont participé à la Mission Teleost : Sarah Brown-Vuillemin, Hugo Bourdages, Hugues Benoit, Jean-François Lussier, Denis Bernier, Pierre-Marc Scallon-Chouinard, Marie-Julie Roux et Jérôme Gagnon.

À la Team du labo à Céline, Renée Gagné, Léo, Clémence, Ghizlane, Nina pour toute leur aide au laboratoire, et pour le soutien moral dans les longues journées d'extraction et de montage de plaques.

À la Team Sébastes, Sarah, Lola et Corinne, je n'aurais pas pu demander une meilleure équipe pour travailler sur un projet, vous êtes plus que des collègues et pour cela je vous remercie infiniment. Votre soutien dans les moments difficiles était fondamental. Love you girls!

Merci à tous les collègues de l'O-262 et à mes ami.e.s et famille colombienne à Rimouski : Los Gonzalez (y compris oncles et cousins), Natalia, Andrés, Luly, Cristian, Tati, César, Ale, Juan, Luis, José, pour avoir fait de ces années un temps vraiment spécial. Un merci très spécial aussi à Annie Duchesne pour son soutien et son amitié inconditionnelle.

Finalmente, mil y mil gracias a mi familia. Mis papas y mi hermano que han estado siempre para mi sin importar la distancia, apoyándome en todas las decisiones que he tomado y que me han llevado hasta donde estoy hoy. Gracias por estar presentes en cada momento

importante de mi vida. A los Hermanitos Martínez por haber hecho de este doctorado en pandemia una experiencia maravillosa que nos permitió reencontrarnos y valorar lo importante que es la familia. A Santi, la persona mas importante de mi vida, y a quien le debo sin duda este doctorado. ¡Eres el brazo que me sostiene!

AVANT-PROPOS

Cette thèse présente les résultats des recherches menées sur la compréhension de la régulation endocrinienne de la croissance et de la régulation enzymatique du métabolisme chez les poissons d'intérêt pour l'industrie aquicole et halieutique.

Le volet omble de fontaine a été financé par des fonds du Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et en Génie du Canada (CRSNG), subvention à la découverte N° RGPIN-2019-05739, octroyée à Céline Audet.

Le volet sébastes s'inscrivait dans le cadre du programme de partenariat « Retour du poisson de fond dans l'Estuaire et le nord du Golfe du Saint-Laurent », cofinancé par Pêches et Océans Canada (MPO) et Ressources Aquatiques Québec (RAQ) – Regroupement stratégique des Fonds de recherche du Québec. Responsables : Céline Audet et Dominique Robert.

RÉSUMÉ

La transcriptomique est un outil puissant qui révèle de nouvelles informations sur la biologie des organismes. Dans l'industrie de l'aquaculture, il est essentiel de comprendre les mécanismes qui contrôlent le développement et la croissance pour améliorer la viabilité et la qualité des juvéniles. L'étude de la croissance est également importante dans le secteur des pêches, car la modélisation de la croissance est essentielle à la gestion des stocks de poissons économiquement importants. Le but de cette étude était d'explorer comment la transcriptomique peut apporter des informations sur les voies de régulation de la croissance et du métabolisme chez des téléostéens d'intérêt commercial pour l'aquaculture, en utilisant l'omble de fontaine *Salvelinus fontinalis* comme modèle, ou dans les pêches commerciales en utilisant *Sebastes mentella*.

Chez l'omble de fontaine, nous avons utilisé la PCR en temps réel, méthode TaqMan, pour évaluer l'expression relative de 10 gènes cibles et de trois gènes de référence chez 96 juvéniles provenant de la souche Laval et d'une lignée en cours de sélection (pour une croissance forte chez les individus non sexuellement matures à 1+) ainsi qu'une lignée contrôle (croisements aléatoires, mais en évitant les croisements frères-sœurs). Chez les juvéniles de la lignée sélectionnée, les gènes impliqués dans l'axe hormone de croissance (GH)/facteur de croissance insulinique (IGF-1) étaient surexprimés, y compris l'*igf-1r* hypophysaire, le *ghr-1* et l'*igf-1* du foie ainsi que le *ghr-1* et l'*igf-1r* du muscle ; ces changements dans l'expression des gènes ont permis d'améliorer la croissance (poids et longueur) des juvéniles issus du processus de sélection. Toutefois, les mêmes observations n'ont pas été faites lorsque l'on a comparé différents phénotypes de croissance au sein des familles. Dans ce cas, la régulation de l'appétit, y compris la surexpression du *lepr*, semble plutôt être le facteur expliquant les différences. Aucune différence n'a été constatée en examinant d'autres gènes impliqués dans le contrôle de l'appétit (*grl*, *srifr*) ou la croissance musculaire (*mhc*, *myog*). De grandes variations phénotypiques existent toujours dans la lignée sélectionnée, ce qui indique que le plein potentiel de sélection génétique n'a pas encore été atteint.

La même approche que celle utilisée dans le contexte de l'aquaculture s'est révélée utile dans l'évaluation des effets environnementaux sur la croissance et le métabolisme des juvéniles de sébastes dans l'Estuaire et le Golfe du Saint-Laurent (EGSL). En utilisant la même approche technique, sept gènes cibles et trois gènes de référence ont été évalués à sept sites de capture dans l'EGSL. Les expressions relatives d'*igf-1* et de *ldh* étaient positivement corrélées avec le poids, tandis que celles de *mhc*, *pk* et *cs* étaient négativement corrélées. L'expression relative de *cox* et d'*igf-1r* a montré des corrélations négatives avec la température. Ces différences dans la régulation métabolique pourraient expliquer les disparités de taille trouvées chez *S. mentella* parmi les zones de l'EGSL. L'estuaire semble être la zone la moins propice à la croissance du sébaste atlantique, contrairement au détroit de Cabot, où les plus gros individus ont été capturés. Nous n'avons trouvé aucun indice d'effets de l'oxygène dissous, de la salinité ou de la profondeur sur la masse moyenne. Enfin, étant donné que la croissance de *S. mentella* est fortement positivement corrélée avec la température, cette étude suggère un avantage écologique pour cette espèce dans le contexte du réchauffement planétaire.

L'un des principaux apports de cette thèse a été de mettre en évidence les différences associées à la régulation de la croissance (sélection vs phénotypes intra et inter familiaux). Le rôle de certains gènes associés au contrôle de l'appétit, en particulier *lepr*, et comment son expression peut être associée à la performance individuelle et familiale est à souligner. Dans l'ensemble, les résultats suggèrent que l'expression de l'*igf-1* hépatique et de l'*igf-1r* hépatique et musculaire chez l'omble de fontaine et le sébaste sont de bons indicateurs physiologiques de la croissance, tout comme le *pk* musculaire et le *cox* cardiaque pour le métabolisme chez le sébaste atlantique. Cette étude met en évidence comment la transcriptomique peut être utile dans la poursuite de différents objectifs de recherche, entre autres pour déterminer le rôle des différents stades endocriniens clés qui modulent la performance physiologique et pour étudier la croissance d'espèces dont les conditions d'habitat sont difficiles à reproduire en milieu expérimental, comme la profondeur ou la pression pour le sébaste atlantique.

Mots clés : Transcriptomique, Expression de gènes, Croissance, Métabolisme, Sélection, Température

ABSTRACT

Transcriptomics is a powerful tool that reveals new information on the biology of organisms. In the aquaculture industry, understanding the mechanisms that control development and growth is essential for improving the viability and quality of juveniles. Studying growth is also important in fisheries since growth modeling is fundamental in the management of economically important fish stocks. The aim of this study was to explore how transcriptomics can reveal information on growth regulatory pathways and metabolism of teleosts that are of commercial interest in aquaculture, using brook charr *Salvelinus fontinalis* as a model, or in commercial fisheries, using the deepwater redfish *Sebastes mentella*.

In brook charr, we used qPCR and TaqMan probes to evaluate the relative expression of 10 target genes and three reference genes in 96 juveniles originating from the Laval strain and from one line undergoing selection (for absence of early sexual maturation and increased growth) as well as one control line (random crosses, but avoiding sibling crosses). In juveniles from the selected line, genes involved in the growth hormone (GH)/insulin growth factor (IGF-1) axis were overexpressed, including pituitary *igf-1r*, liver *ghr-1*, and *igf-1* as well as muscle *ghr-1* and *igf-1r*; these changes in gene expression resulted in the improved growth (weight and length) of juveniles resulting from the selection process. However, this was not true when comparing different growth performance phenotypes within families. In this case, appetite regulation, including the overexpression of *lepr*, would be the factor explaining the differences. No difference was found when looking at other genes involved in appetite control (*grl*, *srf1r*) or muscle growth (*mhc*, *myog*). Large phenotypic variations still exist in the selected line, indicating that the potential for genetic selection has not yet been achieved.

The same approach as that used in the aquaculture context was shown to be valuable in the assessment of environmental effects on the growth and metabolism of redfish juveniles in the Estuary and Gulf of St. Lawrence (EGSL). Using the same technical approach, seven target genes and three reference genes were evaluated at seven capture sites in the EGSL. The relative expressions of *igf-1* and *ldh* were found to be positively correlated with weight, while *mhc*, *pk*, and *cs* were negatively correlated. The relative expression of *cox* and *igf-1r* showed negative correlations with temperature. These differences in metabolic regulation could explain the size disparities found in *S. mentella* among EGSL zones. The estuary

appears to be the least suitable area for the growth of deepwater redbfish unlike Cabot Strait, where the largest individuals were captured. We found no evidence of the effects of dissolved oxygen, salinity, or depth on average mass. Finally, given that *S. mentella* growth is strongly positively correlated with temperature, this study suggests an ecological advantage for this species in the context of global warming.

One of the main findings of this work was to highlight the differences in the mode of growth regulation that may exist (selection vs. inter and intra familial phenotypes). The role of certain genes associated with appetite control, particularly *lepr*, and how its expression can be associated with individual and family performance is to be underlined. Overall, the results suggest that the expression of liver *igf-1* and liver and muscle *igf-1r* in both brook charr and redbfish are good physiological indicators of growth as are muscle *pk* and heart *cox* for metabolism in deepwater redbfish. This study highlights how transcriptomics can be useful in pursuing different research goals, such as determining the role of different key endocrine stages modulating physiological performance as well as studying the growth of species whose habitat conditions are difficult to reproduce in experimental conditions, like the depth and pressure for deepwater redbfish.

Keywords: Transcriptomics, Growth, Appetite control, Metabolism, Selection, Phenotype, Temperature

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	ix
AVANT-PROPOS	xii
RÉSUMÉ	xiii
ABSTRACT	xv
TABLE DES MATIÈRES.....	xvii
LISTE DES TABLEAUX.....	xxi
LISTE DES FIGURES.....	xxii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES	xxv
LISTE DES SYMBOLES	xxviii
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
LES INDICATEURS PHYSIOLOGIQUES.....	2
COMMENT ÉTUDIER LA RÉGULATION DE LA CROISSANCE ?	2
La régulation endocrinienne.....	2
La croissance musculaire	8
LA RÉGULATION ENZYMATIQUE DU MÉTABOLISME	10
MESURE DE LA RÉGULATION DE LA CROISSANCE.....	13
GÉNÉTIQUE ET ÉPIGÉNÉTIQUE.....	13
L'utilité de la transcriptomique dans l'étude de la croissance et du métabolisme.....	14
Principes de l'expression génique (ADN, ARNm)	15
LA SÉLECTION COMME FACTEUR DÉTERMINANT DE LA CROISSANCE CHEZ LES POISSONS D'INTÉRÊT AQUACOLE	16

L'ENVIRONNEMENT COMME FACTEUR DÉTERMINANT DE LA CROISSANCE ET DU	
MÉTABOLISME CHEZ LES POISSONS	18
OBJECTIF DE RECHERCHE.....	20
LES MODÈLES BIOLOGIQUES UTILISÉS DANS CETTE ÉTUDE.....	20
Omble de fontaine (<i>Salvelinus fontinalis</i>).....	20
Sébaste atlantique (<i>Sebastes metella</i>)	22
CHAPITRE 1 REGULATION DE LA CROISSANCE CHEZ L'OMBLE DE	
FONTAINE <i>Salvelinus fontinalis</i>	27
1.1 RÉSUMÉ.....	27
1.2. ABSTRACT	29
1.3. INTRODUCTION.....	30
1.4. METHODOLOGY	33
1.4.1 Selection process.....	33
1.4.2 Sampling.....	33
1.4.3 Total RNA and cDNA synthesis.....	36
1.4.4 Primer design for target genes	36
1.4.5 Measurement of gene expression by qPCR.....	37
1.4.6 Statistical analyses	41
1.5. RESULTS	42
1.5.1. Weight, length, and condition differences between control and selected lines.....	42
1.5.2 Weight, length, and condition differences among families.....	43
1.5.3 Gene expression	45
1.6. DISCUSSION	50
1.6.1 Selection-based effects on gene expression.....	50
1.6.2 Gene expression related to family performance	53
1.6.3 Phenotypic variations	53
1.6.4 Impact of the selection process on general growth across generations.....	55
1.7. CONCLUSIONS.....	55
1.8. ACKNOWLEDGEMENTS	56

CHAPITRE 2 UTILISATION DE L'EXPRESSION GÉNIQUE POUR DÉTERMINER LES CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES LES PLUS PROPICES À LA CROISSANCE ET AU MÉTABOLISME DES JUVÉNILES de sÉbastes (<i>Sebastes mentella</i>) DANS L'ESTUAIRE ET LE GOLFE DU SAINT-LAURENT.....	57
2.1 RÉSUMÉ.....	57
2.2 ABSTRACT.....	59
2.3 INTRODUCTION.....	60
2.4 METHODS.....	63
2.4.1 Redfish sampling	63
2.4.2 Fish condition	71
2.4.3 Genetic identification of individuals.....	71
2.4.4 Gene expression.....	72
2.4.5 Statistical analyses	74
2.5 RESULTS	76
2.5.1 Individual fish characteristics.....	76
2.5.2 Genes involved in growth regulation.....	76
2.5.3 Genes involved in metabolism	79
2.5.4 Relationship between genomic indicators and site-scale and individual-scale characteristics.....	79
2.6 DISCUSSION.....	82
2.6.1 Transcriptomics indicators and fish weight.....	82
2.6.2 Transcriptomics indicators and temperature conditions	84
2.6.3 Gene expression and other physicochemical variables.....	86
2.7 CONCLUSION.....	87
2.8 ACKNOWLEDGEMENTS.....	87
DISCUSSION GÉNÉRALE.....	89
RAPPEL DU CONTEXTE DE CETTE ÉTUDE	89

LA RÉGULATION DE LA CROISSANCE AU NIVEAU MOLÉCULAIRE CHEZ LES POISSONS D'INTÉRÊT COMMERCIAL.....	90
IMPORTANCE DE CE TYPE D'ÉTUDES POUR LES ESPÈCES D'INTÉRÊT AQUICOLE ET HALIEUTIQUE.....	95
DIFFICULTÉS RENCONTRÉES AU COURS DE CE DOCTORAT	96
PERSPECTIVES	97
CONCLUSION GÉNÉRALE	98
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	101
ANNEXES.....	124

LISTE DES TABLEAUX

Table 1. Growth characteristics of <i>Salvelinus fontinalis</i> 1+ families used in the study.....	34
Table 2. Mean weight, length, and condition factor of <i>Salvelinus fontinalis</i> at 18 months.	35
Table 3. Information on sequences and primers obtained for <i>Salvelinus fontinalis</i>	38
Table 4. qPCR IDT assays used for transcriptomics in <i>Salvelinus fontinalis</i> pituitary.....	39
Table 5. qPCR TaqMan assays used for <i>Salvelinus fontinalis</i> transcriptomics in the brain, liver, and muscle.	40
Table 6. Final generalized linear mixed model (GLMM) of random (family) and fixed (weight, length, condition, and line [selected or control]) effects modifying the the relative expression of genes related to the growth regulation pathway in 1+ <i>Salvelinus fontinalis</i> in the different sampled tissues.	46
Table 7. Position, biomass (entire catch per site), number of fish measured, and bottom physicochemical parameters at each sampling site in the Estuary and Gulf of St. Lawrence.	66
Table 8. Number of deepwater redfish measured per site (total 670) with their mean (\pm SD) weight, length, and Fulton condition factor.....	67
Table 9. Mean \pm (SD) weight, length and Fulton condition factor for the 10 redfish individuals per site used for genetic analysis.	68
Table 10. Information on partial sequences and probes obtained for <i>Sebastes mentella</i>	69
Table 11. Number of deepwater redfish measured per site (total 670) with their mean (\pm SD) weight, length, and Fulton condition factor.	77

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Mécanismes physiologiques et boucle de régulation de la croissance chez les poissons	3
Figure 2. Représentation schématique du développement des myocytes de poissons et de l'expression génique des facteurs myogéniques.	8
Figure 3. Mécanismes physiologiques (enzymes) liés au métabolisme chez les poissons	12
Figure 4. Aperçu du flux d'informations de l'ADN vers la protéine chez un eucaryote	16
Figure 5. Omble de fontaine (<i>Salvelinus fontinalis</i>).....	21
Figure 6. Sébaste (<i>Sebastes mentella</i>)	23
Figure 7. Weight (g), length (cm), and condition factor of 1+ <i>Salvelinus fontinalis</i> families from control or selected lines.	44
Figure 8. Line effects on the relative gene expressions in 1+ <i>Salvelinus fontinalis</i>	47
Figure 9. Relative gene expressions in 1+ <i>Salvelinus fontinalis</i> based on phenotype.	49
Figure 10. Endocrine growth regulation pathway of 1+ <i>Salvelinus fontinalis</i> in the selected line.....	51
Figure 11. Endocrine growth regulation pathway of 1+ <i>Salvelinus fontinalis</i> from (left) low-performance families / slow-growing phenotype and (right) high-performance families / fast-growing phenotype.....	54
Figure 12. Deepwater redbfish sampling sites in the Estuary and Gulf of St Lawrence.....	64
Figure 13. Relative changes in gene expression (mean \pm SE) of three target genes related to growth in deepwater redbfish captured at the sampling stations.....	78

Figure 14. Relative changes in gene expression (mean \pm SE) of four target genes related to metabolism in deepwater redbfish captured from the sampling stations.....	80
Figure 15. (A): Site-scale and individual-scale analyses.....	81
Figure 16. Représentation de la régulation génique reliée à la croissance et au métabolisme chez l’omble de fontaine et le sébaste appartenant à des groupes caractérisés par un phénotype de faible-croissance « slow-growing ».	92
Figure 17. Représentation de la régulation génique reliée à la croissance et au métabolisme chez l’omble de fontaine et le sébaste appartenant à des groupes caractérisés par une forte croissance « fast-growing ».....	94

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1. Information on the primers used for sequencing targeted genes in *Sebastes mentella*.124

Annexe 2. Principal component analysis (PCA) of the gene expression database (*igf-1*, *igf-1r*, *myo*, *cox*, *cs*, *pk*, *ldh*) associated with capture sites for deepwater redfish.....126

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

AC	Anticosti Channel
ADN	Acide Desoxiribonucleique
AG	Anticosti-Gaspé
AKT	Protein kinase B
ANOVA	Analyse of variance
ARN	Acide Ribonucleique
ARNm	ARN messenger
ARNr	ARN ribosomal
ARNt	ARN de transfert
ATP	Adénosine Triphosphate
bp	Number of base pairs
CCGS	Canadian Coast Guard Ship
cDNA	Complementary DNA
CHF	Control + High performance + Fast-growing
CLS	Control + Low performance + Slow-growing
COSEPAC	Comité sur la situation des espèces en péril au Canada
COX	Cytochrome c oxydase
COVID-19	Maladie à coronavirus 2019
CO₂	Dioxyde de carbone
CRSNG	Conseil de Recherche en Sciences naturelles et en génie du Canada
CS	Citrate synthase
CSt	Cabot Strait
CT	Cycle thresholds
DFO	Department of Fisheries and Oceans Canada

EC	Esquiman Channel
EGSL	Estuaire et Golfe du Saint-Laurent
ES	Estuaire
GA	Gyre d'Anticosti
Gen-FISH	Genomic Network for Fish Identification, Stress and Health
GH	Growth Hormone
GHR	Récepteur de l'hormone de croissance
GH-RH	Hormone liberatrice de l'hormone de la croissance
GRL	Ghréline
IGF-1	Insulin-like Growth Factor 1
LC	Laurentian Channel
LDH	Lactate déshydrogénase
LEP	Leptine
MHC	Myosin heavy chain
MLC	Myosin low chain
MPCs	Cellules progénitrices myogéniques
MPO	Pêches et Océans Canada
MRF	Facteurs de régulation myogénique
Myf5	Myogenic factor 5
MyoD2	Myogenic factor D2
NPY	Neuropeptide Y
Pax7	Protein paired box 7
PCNA	Antigène nucléaire cellulaire proliférant
PCR	Réaction en chaîne par polymérase
PFK-1	Phosphofruktokinase-1
PI3K	Phosphoinositide 3-kinases
PK	Pyruvate kinase
qPCR	Quantitative Polymerase Chain Reaction
RAQ	Ressources Aquatiques Québec

RDA	Redundant analyse
SHF	Selection + High performance + Fast-growing
SLS	Selection + Low performance + Slow-growing
Sox8	SRY-Box transcription factor 8
SRIF	Somatostatine
TD	Tube digestif
Tm	Melting temperature
TOR	Target of rapamycin
UBO	Université de Bretagne Occidentale

LISTE DES SYMBOLES

α	Alpha
β	Beta
Δ	Delta
μL	Microlitres
$\mu\text{mol/kg}$	Micromolaire par kilogramme
$^{\circ}$	Degrés Celsius
\sim	In function of
	In function of the random effect

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Comprendre la croissance des organismes vivants est au cœur de l'étude des individus, des populations et des communautés. Dans le secteur de la pêche par exemple, la modélisation de la croissance est fondamentale pour la gestion des stocks de poissons, qui constituent des ressources économiques importantes (Higgins *et al.*, 2015). Il est aussi important pour l'industrie aquacole de comprendre les mécanismes qui contrôlent le développement précoce et la croissance musculaire afin d'identifier les fenêtres temporelles du développement pendant lesquelles ont lieu des variations de croissance et qui influencent la viabilité et la qualité des juvéniles (Valente *et al.*, 2013). À son niveau le plus élémentaire, la croissance est simplement un changement de taille au fil du temps. Ce changement de taille d'un poisson peut être évalué en mesurant les différences de longueur et / ou de poids. La croissance en longueur est un processus physiologique distinctement différent de la croissance en masse, et la croissance en masse elle-même peut impliquer un certain nombre de processus physiologiquement distincts (croissance musculaire, croissance du foie, croissance des viscères, croissance des gonades et lipogenèse) (Beckman, 2011). Chez les poissons, la croissance est très labile et elle est aussi influencée par la qualité et la quantité de nourriture ainsi que par les facteurs environnementaux tels que la température. De plus, étant donné que les poissons sont poïkilothermes (ayant une température corporelle qui varie avec celle de leur milieu) et qu'ils vivent immergés en permanence dans l'eau, ils sont très directement affectés par les changements dans leur milieu. Une étude de la croissance des poissons offre donc de nombreuses occasions d'enquêter sur l'équilibre dynamique et les états des populations (Weatherley, 1972).

LES INDICATEURS PHYSIOLOGIQUES

Les mesures physiologiques peuvent aider à déterminer les seuils environnementaux qui limitent le rendement des organismes. Le fait d'établir un lien de cause à effet entre ces seuils et les changements à long terme des processus biologiques d'intérêt (p. ex., croissance, survie, reproduction) chez les populations sauvages (dans le cas des pêches) ou des souches (dans le cas de l'aquaculture) pourrait donner lieu à de solides avis scientifiques à l'appui des efforts de conservation ou d'amélioration de la production (Moyano *et al.*, 2020).

Dans cette thèse, les indicateurs physiologiques seront les mesures de l'expression de gènes reliés à la croissance et au métabolisme, aussi appelés indicateurs moléculaires.

COMMENT ÉTUDIER LA RÉGULATION DE LA CROISSANCE ?

Différentes approches peuvent être utilisées pour mieux comprendre la régulation de la croissance, que ce soit sur le plan endocrinien (régulation hormonale), enzymatique (régulation du métabolisme) ou moléculaire (expression génique).

La régulation endocrinienne

L'axe GH/IGF-1

Le système endocrinien est un réseau d'information chimique constitué de plusieurs glandes qui produisent et sécrètent des messagers chimiques, ou hormones, en réponse à divers stimuli biotiques et abiotiques (Bern, 1990). Les hormones sont des régulateurs de fonctions clés des vertébrés incluant le développement, le métabolisme, la croissance et la reproduction. Le système endocrinien est basé sur la capacité des cellules cibles à recevoir ces signaux chimiques et à y répondre de façon appropriée permettant ainsi de contrôler la physiologie et le comportement d'un organisme afin de maintenir son homéostasie dans un environnement changeant (Hamlin, 2014).

Chez les poissons téléostéens, les performances de croissance sont principalement contrôlées par l'axe hormone de croissance (GH) / facteur de croissance analogue à l'insuline-1 (IGF-1; Figure 1) (Björnsson, 1997; Wood *et al.*, 2005; Duan *et al.*, 2010; Vélez *et al.*, 2017). Dans chaque tissu, le fonctionnement de l'axe GH/IGF-1 est modulé par les conditions environnementales, comme par exemple les conditions nutritionnelles ou thermiques, dans le but d'adapter une réponse spécifique au tissu impliqué (Reindl et Sheridan, 2012; Breves *et al.*, 2016). En identifiant les mécanismes moléculaires qui modulent la signalisation GH/IGF-1 au niveau endocrinien, nous serons en mesure de comprendre plus précisément les patrons de croissance des populations de poissons sauvages ou encore d'optimiser les stratégies d'élevage pour les poissons produits commercialement (Picha *et al.*, 2008b).

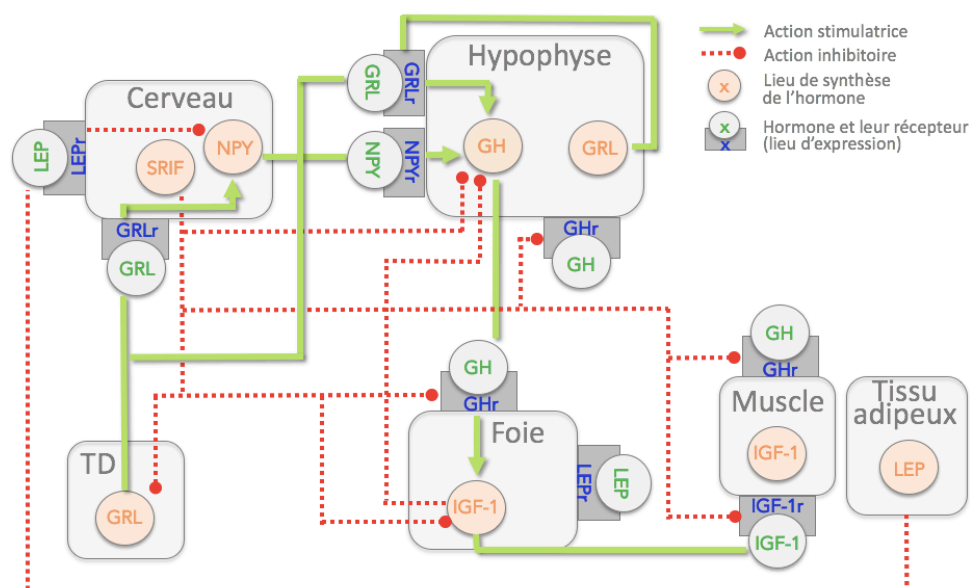


Figure 1. Mécanismes physiologiques et boucle de régulation de la croissance chez les poissons (SRIF somatostatine ; GH hormone de croissance ; GHr récepteur de GH ; IGF1 facteur de croissance ; IGF1r récepteur de IGF1 ; NPY neuropeptide Y ; GRL ghréline ; LEP leptine ; TD tube digestif).

La GH joue un rôle important dans i) l'anabolisme des protéines via la signalisation de l'IGF-1 et dans ii) le catabolisme des lipides par la stimulation directe de la lipolyse par l'activation du récepteur de l'hormone de croissance (GHR) dans le foie et les tissus extra-hépatiques (Hevrøy *et al.*, 2015). L'action de la GH est le résultat d'une cascade intracellulaire initiée juste après son interaction avec le GHR situé à la surface des cellules cibles. Les GHR sont des protéines membranaires qui se lient à la GH avec une affinité et une spécificité élevée, activant un système de signalisation post-récepteur qui résulte ultimement dans l'activation de la transcription des gènes cibles, comme ceux codant pour la synthèse d'IGF-1 (Meier *et al.*, 2009). La GH régule de nombreuses fonctions, notamment la croissance somatique, le métabolisme énergétique, la reproduction, la digestion, l'osmorégulation et les fonctions immunitaires (Reinecke *et al.*, 2005; Kawaguchi *et al.*, 2013). Chez les poissons, la libération de la GH par l'hypophyse antérieure est stimulée par l'hormone de la libération de l'hormone de croissance (GH-RH) et inhibée par la somatostatine (SRIF) produite dans l'hypothalamus. La GH sécrétée par l'hypophyse antérieure stimule, via ses récepteurs GHR (GHR-1 / GHR-2), la synthèse d'IGF-1 dans le foie et sa libération dans la circulation. L'IGF-1 atteint ses cellules cibles dans de nombreux organes via la circulation sanguine, où elle interagit avec le récepteur IGF de type 1 (IGF-1r) afin d'exercer ses effets. L'IGF-1 circulante est un régulateur majeur de rétroaction négative de la sécrétion hypophysaire de GH car elle inhibe spécifiquement la transcription et la sécrétion du gène codant pour la GH (Figure 1) (Reinecke, 2010). Les effets physiologiques de la GH sont donc généralement indirects, via les actions de IGF-1 (Volkoff *et al.*, 2010).

En tant qu'intégrateur de la physiologie de l'organisme et de son environnement, l'IGF-1 peut servir d'indicateur écologique de l'état des poissons dans les populations naturelles. Cependant, l'utilité de cet outil dépend de la compréhension des conditions dans lesquelles la comparaison des niveaux d'IGF-1 entre des groupes d'individus est effectuée. L'interprétation des différences de croissance entre des groupes de poissons, telles que déduites de l'IGF-1, peut être facilitée en comparant les individus au sein de la même saison, classe de taille / âge ou stade de maturité (Beaudreau *et al.*, 2010). Chez les poissons sauvages, les niveaux d'IGF-1 reflètent probablement une réponse combinée aux

changements saisonniers des conditions environnementales (c.-à-d. température, photopériode, approvisionnement alimentaire) et à l'état de reproduction. De plus, les changements saisonniers dans la relation entre l'IGF-1 et le taux de croissance spécifique peuvent compliquer l'interprétation des modèles saisonniers des concentrations plasmatiques d'IGF-1 (Beckman *et al.*, 2004a). Par conséquent, l'utilisation de l'IGF-1 comme indicateur du taux de croissance ou de l'état nutritionnel des poissons sauvages nécessite une compréhension de la façon dont les facteurs intrinsèques et extrinsèques interagissent pour finalement influencer la concentration plasmatique d'IGF-1 (Beaudreau *et al.*, 2010). L'intérêt d'utiliser l'IGF-1 comme indicateur de croissance chez les poissons a fait l'objet de plusieurs études et revues (Beckman, 2011; Beckman *et al.*, 2004b; Dyer *et al.*, 2004; Picha *et al.*, 2008b).

Neuropeptide y

Le neuropeptide y (NPY), synthétisé par le cerveau, est un autre facteur qui influence la production de GH (Aldegunde et Mancebo, 2006) (Figure 1). Il influence un certain nombre de paramètres physiologiques dont deux des plus étudiés sont la prise alimentaire et l'équilibre énergétique (Silverstein et Plisetskaya, 2000). La régulation de l'appétit est un processus clé dans le contrôle de la croissance et celle-ci se fait par l'intermédiaire d'hormones produites par le cerveau et par certaines organes périphériques (Volkoff *et al.*, 2009, 2010). En fait, le NPY est l'un des agents orexigènes (stimulateur de l'appétit) les plus puissants (Breton *et al.*, 1989; Cerdá-Reverter et Larhammar, 2000; Dumont *et al.*, 1992). La boucle de régulation de l'appétit est très complexe et implique les signaux périphériques provenant d'un mécanisme lipostatique (anorexigène, inhibiteur de l'appétit) qui fait intervenir la leptine (LEP) et la ghréline (GRL, orexigène) qui vont réguler l'apport énergétique en modulant le NPY et d'autres neuropeptides dans le centre d'alimentation central (Won et Borski, 2013).

Ghréline

Chez les poissons, les principales fonctions physiologiques de la GRL connues à ce jour sont la régulation de la sécrétion d'hormones hypophysaires, la régulation de la prise alimentaire, le contrôle de la prise d'eau, et la croissance (Björnsson *et al.*, 2002; Unniappan et Peter, 2005). La GRL est un ligand naturel du récepteur sécrétagogue de la GH. C'est un facteur orexigène important et elle exerce plusieurs autres actions biologiques au niveau de l'homéostasie énergétique et du métabolisme (Jonsson et Holmgren, 2012). La séquence d'acides aminés de la GRL a été signalée chez différentes espèces de poissons et il semblerait que sa structure et ses fonctions soient fortement conservées chez les vertébrés (Kaiya *et al.*, 2008).

Chez les vertébrés non-mammaliens, la transcription du récepteur de GRL dans le système nerveux central et dans divers organes périphériques comme l'hypothalamus a été démontrée, mais l'expression prédominante se produit dans l'hypophyse, même si des transcriptions de GRL ont été détectées dans la plupart des organes chez les poissons (Kaiya *et al.*, 2008). La GRL modifie la prise alimentaire en agissant sur des signaux d'appétit bien connus, tels que le NPY, dans l'hypothalamus d'une manière spécifique à l'espèce. Parmi les poissons, la GRL a été très étudiée chez le poisson rouge (*Carassius auratus*, voir (Jonsson, 2013) où il a été démontré que les fibres sensorielles du nerf vague transmettaient le signal de la GRL d'origine intestinale pour moduler l'appétit et l'activité d'alimentation/de natation et la perception de la nourriture.

Leptine

La LEP est une hormone peptidique anorexigène (inhibiteur de l'appétit) qui est utilisée comme un indicateur de l'adiposité chez les mammifères. Chez les poissons, la leptine a tendance à être principalement exprimée dans le foie, tissu important de stockage d'énergie, plutôt que dans les dépôts de graisse comme chez les mammifères (Won *et al.*, 2016). À l'instar d'autres neuropeptides hypothalamiques, y compris la GRL et le NPY, la leptine est impliquée dans le comportement alimentaire et l'équilibre énergétique et d'autre

part, fournit des informations sur la disponibilité des aliments métaboliques stockés (Shahjahan *et al.*, 2014).

La LEP est une protéine qui transmet un signal de satiété à l'hypothalamus après son entrée dans le cerveau. La découverte qu'une sous-population de cellules productrices de NPY dans l'hypothalamus peut être l'une des cibles de l'action de la leptine est sans doute l'une des découvertes les plus révélatrices de la voie de signalisation adipocyte-hypothalamique (Kalra *et al.*, 1999). La LEP régule la prise alimentaire par la stimulation de neurones supprimeurs de l'appétit et l'inhibition des neurones stimulant l'appétit au niveau hypothalamique (Elias *et al.*, 1999). Dans le tissu adipeux, la sécrétion de leptine pendant l'alimentation restreinte provoque l'utilisation de l'énergie endogène pour maintenir les fonctions physiologiques chez les poissons (Ahima *et al.*, 2000).

Somatostatine

La somatostatine aussi appelée SRIF (de l'anglais Somatotropin Release-Inhibiting Factor) est un long peptide principalement synthétisé dans le cerveau (plus précisément dans l'hypothalamus) de tous les vertébrés (Nelson et Sheridan, 2005; Canosa *et al.*, 2007; Sheridan et Hagemester, 2010; Volkoff *et al.*, 2010). Elle est connue comme étant l'un des principaux éléments inhibant la synthèse et la sécrétion de GH (Peng and Peter, 1997; Canosa *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2016). La SRIF agit sur la croissance des organismes en agissant à plusieurs niveaux de l'axe GH/IGF-1 : en réduisant la sensibilité à la GH ainsi qu'en inhibant la production et la sécrétion d'IGF-1 et en diminuant la sensibilité à l'IGF-1. Les actions périphériques de la SRIF sont importantes pour le contrôle local de la croissance et peuvent aider à la coordonner avec d'autres processus tels que le métabolisme, le développement et la reproduction (Sheridan et Hagemester, 2010).

La croissance musculaire

Myosine à longue chaîne

La myogenèse, ou formation du muscle squelettique, chez les poissons comme chez les autres vertébrés, implique le contrôle spécifique de plusieurs facteurs de régulation myogénique (MRF) qui contrôlent des processus tels que la spécification, l'activation et la différenciation des cellules myogéniques. La régulation de l'expression de plusieurs gènes codant pour les protéines musculaires structurales telles que la myosine à chaîne légère (myosin low chain MLC), l'actine et la myosine à chaîne lourde (de l'anglais myosin heavy chain, MHC) permet un assemblage sarcomérique dans les derniers stades de différenciation (Fuentes *et al.*, 2013) (Figure 2).

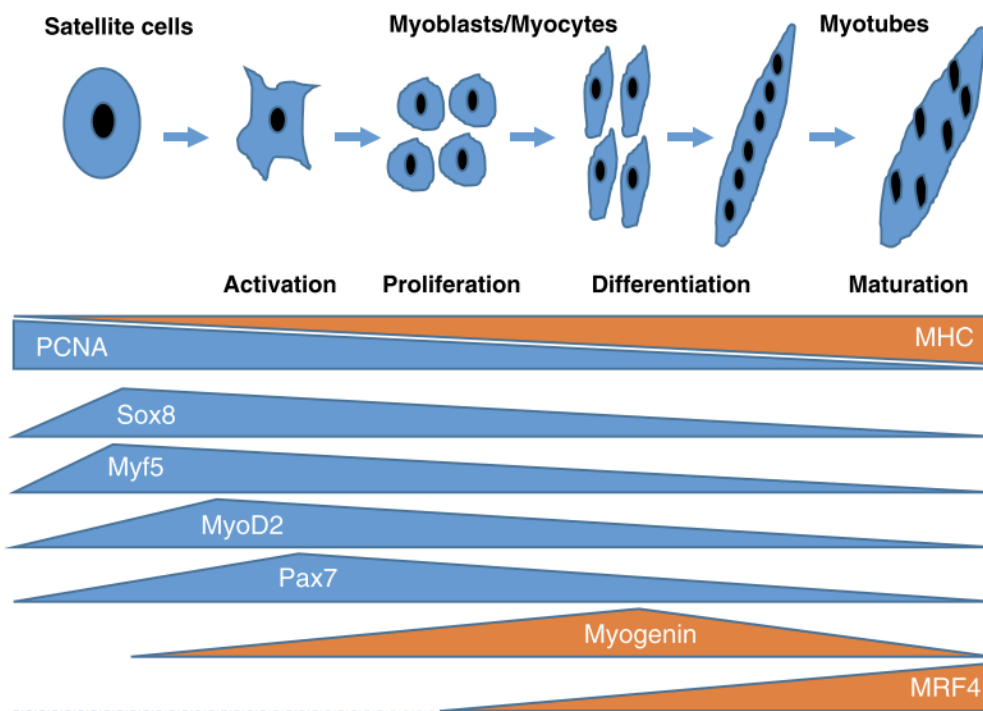


Figure 2. Représentation schématique du développement des myocytes de poissons et de l'expression génique des facteurs myogéniques. L'expression de l'antigène nucléaire de la cellule prolifératrice (PCNA) est plus élevée dans les premières phases du développement

musculaire (en bleu) et s'accompagne de l'expression de différents facteurs de transcription (*sox8*, *myf5*, *myoD2* et *pax7*). Aux stades ultérieurs de différenciation et de maturation, l'expression de la myogénine et du facteur de régulation myogénique (MRF4) augmentent, induisant la maturation des myocytes en myotubes. L'expression de la myosine à chaîne lourde (*mhc*) confirme le processus de différenciation et la maturation à la fin du développement musculaire (en orange) (Vélez *et al.*, 2016).

Les facteurs de régulation myogénique de prolifération (antigène nucléaire cellulaire proliférant, PCNA) et les molécules de différenciation telles que la MHC sont stimulés par l'IGF-1 et mènent à l'activation de différentes voies de signalisation (Azizi *et al.*, 2016). La production continue de fibres musculaires est un phénomène important qui dicte la croissance des téléostéens (Ahammad *et al.*, 2015). Les téléostéens sont uniques parmi les vertébrés en raison de leur croissance continue due à la production continue de fibres musculaires de la naissance jusqu'à la mort (Ahammad *et al.*, 2015). Certaines protéines myofibrillaires clés telles que la MHC, l'actine, la tropomyosine et la troponine sont spécifiquement exprimées dans les tissus musculaires et sont impliquées dans leur contraction (Skaara et Regenstein, 1990; Zhang *et al.*, 2011). D'autres facteurs myogéniques qui participent aux processus de différenciation et de maturation tissulaire tels que le facteur de régulation myogénique (MRF4) sont des éléments clés pour la compréhension des mécanismes régulant la croissance (Vélez *et al.*, 2016) (Figure 2).

Myogénine

Tel qu'expliqué précédemment, la myogenèse est médiée par l'action de nombreux gènes, à savoir les facteurs de régulation myogéniques (MRF) (Johnston *et al.*, 2011). La myogénine (MYOG), ainsi que la MRF4 et la myostatine font partie d'un réseau complexe régulant la sortie des cellules progénitrices myogéniques (MPCs) du cycle cellulaire et le début de la différenciation terminale impliquant la fusion des MPCs pour former des

myotubes, la genèse des myofibrilles et l'assemblage des sarcomères (Campos *et al.*, 2014; Nord *et al.*, 2014) (Figure 2). Différents facteurs tels que la lumière, la température et la nutrition déterminent l'équilibre entre prolifération et différenciation terminale et donc la production de MPCs nécessaire à la croissance (Valente *et al.*, 2013).

LA RÉGULATION ENZYMATIQUE DU MÉTABOLISME

Le potentiel de croissance chez les poissons est directement influencé par le métabolisme car l'énergie disponible pour la croissance est celle qui reste une fois que celle nécessaire à la réalisation des processus métaboliques vitaux a été utilisée (Weatherley, 1972). Le métabolisme oxydatif est le pilier de la production d'ATP aérobie. La glycolyse permet une production d'ATP plus rapide que toute autre voie. Cela est en fait la principale voie de synthèse énergétique pour les tissus capables de forte activité tels que les muscles et les nerfs. En revanche, dans des conditions environnementales hypoxiques ou anoxiques la capacité des mitochondries à produire de l'ATP est réduite ou éliminée et la production énergétique est alors assurée par la glycolyse anaérobie. Ce processus transforme le glucose en lactate lorsque des quantités limitées d'oxygène (O_2) sont disponibles. La glycolyse anaérobie est un moyen efficace de production d'énergie au cours d'un exercice court et intense (Ballantyne, 2014). Afin de bien comprendre ces voies métaboliques, il est indispensable de connaître la fonction de certaines des enzymes impliquées.

Pyruvate kinase

La glycolyse est la seule voie de catabolisme du glucose présente chez tous les organismes et consiste en une oxydation progressive d'une molécule de glucose en deux molécules de pyruvate. La régulation de la voie glycolytique dépend des activités des enzymes clés comme les hexokinases, le phosphofruktokinase-1 (PFK-1) et la pyruvate kinase (PK) (Enes *et al.*, 2009). L'activité de la PK reflète aussi la capacité d'un poisson à nager vigoureusement à grande vitesse (Sullivan et Somero, 1980). La pyruvate kinase est

nécessaire pour cataboliser les acides aminés spécifiques générés pendant la dégradation des protéines musculaires, qui peuvent ensuite être utilisés pour la gluconéogenèse et l'entrée dans le cycle de Krebs (Figure 3) (Salway, 2004). L'activité de PK est également influencée par la nature de glucides alimentaires ingérés (Enes *et al.*, 2009). Des études récentes ont également mis en évidence que la PK était impliquée dans la dégradation des protéines musculaires pour générer du carburant pendant le jeûne (Salway, 2004; Johansen et Overturf, 2006).

Lactate déshydrogénase

On peut en général observer une corrélation positive entre l'activité métabolique et les enzymes glycolytiques incluant la lactate déshydrogénase (LDH) (Moyes et Genge, 2010). Tout comme la PK, la LDH est une enzyme clé dans la régulation du métabolisme anaérobie utilisée comme proxy de l'activité glycolytique (Figure 3) (Somero et Childress, 1980), puisqu'elle est l'enzyme terminale de cette voie (Torres *et al.*, 2012). Il a été démontré que l'augmentation du potentiel enzymatique entraîne, chez les gros poissons, un taux plus élevé de production de lactate dans le muscle blanc en période d'activité maximale et que la concentration maximale de lactate dans le muscle blanc à l'épuisement augmente également avec la taille du poisson (Goolish, 1991; Pelletier *et al.*, 1993b). La LDH est également très sensible aux changements de l'état nutritionnel et aux niveaux d'oxygène dans l'environnement (Vetter et Lynn, 1997).

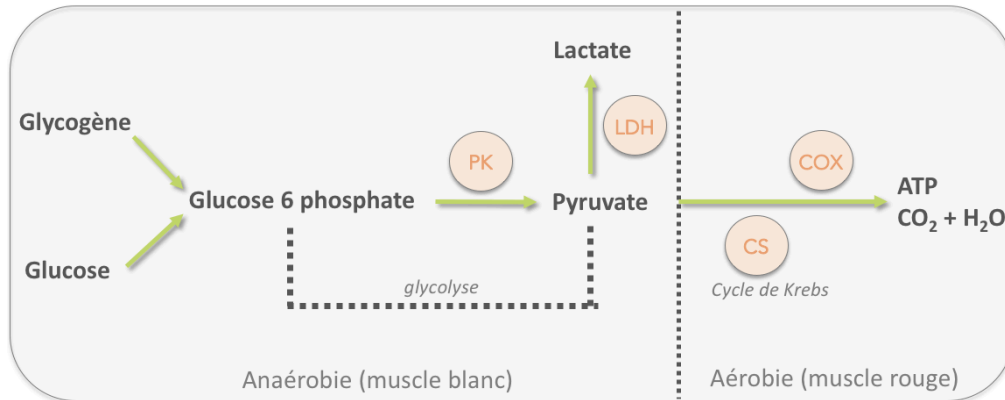


Figure 3. Mécanismes physiologiques (enzymes) liés au métabolisme chez les poissons (PK pyruvate-kinase ; LDH lactate déshydrogénase ; CS citrate synthétase ; COX cytochrome c oxydase).

Citrate synthase

L'activité de la citrate synthase (CS) est utilisée chez les poissons comme indicateur d'une stratégie aérobie (Figure 3) (Torres *et al.*, 2012). En fait, dans le cœur et le muscle rouge en général, il y a une prépondérance du métabolisme aérobie en période de nage continue et les enzymes clés de cette voie métabolique telles que la citrate synthase (CS) et la cytochrome c oxydase (COX) sont donc des indicateurs métaboliques d'intérêt (Yang and Somero, 1996; Torres *et al.*, 2012). L'activité de CS a également été utilisée pour estimer les besoins énergétiques quotidiens, les intervalles d'alimentation et les différences inter-populationnelles en besoins énergétiques (Vetter et Lynn, 1997).

Cytochrome c oxydase

La cytochrome c oxydase catalyse la phosphorylation oxydative afin de produire de l'ATP (Figure 3) (Wilson *et al.*, 2014) et elle est donc un indicateur de la capacité oxydante (Pelletier *et al.*, 1993b). Parmi les indices biochimiques, les concentrations d'ARN ou le rapports d'ARN/ADN dans les tissus et l'activité de COX sont de plus en plus utilisés comme

indicateurs du taux de croissance chez plusieurs espèces de poissons (Foster *et al.*, 1993). Par exemple, (Mathers *et al.*, 1992) ont montré une corrélation positive entre l'activité de la COX et le taux de croissance du lieu noir *Pollachius virens* (gadidé).

MESURE DE LA RÉGULATION DE LA CROISSANCE

Pour approfondir non seulement nos connaissances sur les gènes responsables de la synthèse des hormones et d'enzymes impliqués dans la régulation de la croissance et du métabolisme, mais aussi évaluer l'activité des récepteurs de ces substances dans les cellules cibles, la génétique, et en particulier la transcriptomique via l'analyse de l'expression de gènes apparaît comme étant un outil adapté.

GÉNÉTIQUE ET ÉPIGÉNÉTIQUE

La génétique est l'étude de l'héritage biologique, c'est-à-dire, le mécanisme de transmission de caractères physiques, biochimiques ou comportementaux de génération en génération. La génétique moderne a été établie par Gregor Mendel qui s'est concentré sur des traits distincts et a découvert les lois de base de l'hérédité (Hartl et Jones, 1998). Aujourd'hui, nous savons que l'hérédité est due à des gènes, dont la plupart codent pour des protéines. Par conséquent, les différences dans de nombreux caractères génétiques observables sont dues à des altérations de protéines individuelles qui constituent les voies biochimiques ou qui forment des structures cellulaires. D'autres caractères, plus difficiles à étudier, résultent des effets de plusieurs gènes. Les gènes sont insérés sur de longues chaînes d'ADN appelées chromosomes. Par conséquent, les gènes voisins ont tendance à être hérités ensemble. Les organismes vivants contiennent plusieurs centaines à plusieurs milliers de gènes différents portés sur un ou plusieurs chromosomes (Clark *et al.*, 2019a). Le premier grand bond en avant est survenu lorsque les biochimistes ont démontré que chaque étape d'une voie biochimique était déterminée par un seul gène. Chaque réaction de biosynthèse est réalisée

par une protéine spécifique appelée enzyme. Chaque enzyme a la capacité de réguler une réaction chimique particulière, de là le modèle génétique « un gène - une enzyme » (Clark *et al.*, 2019a).

L'épigénétique fait référence aux mécanismes moléculaires qui affectent l'expression des gènes sans altérer la séquence des bases azotées de l'ADN (Kilvitis. *et al.*, 2014). Alors que les traits et la plasticité des traits sont en partie génétiques (héréditaires), l'étude des mécanismes épigénétiques peut fournir une compréhension plus nuancée des mécanismes sous-jacents à la réponse à l'environnement (Foust *et al.*, 2016). Cette réponse à l'environnement est modulée au niveau moléculaire et il est de plus en plus évident que les mécanismes épigénétiques jouent un rôle dans la formation du phénotype (Foust *et al.*, 2016).

L'utilité de la transcriptomique dans l'étude de la croissance et du métabolisme

L'expression génique est la traduction d'informations génétiques en synthèse de macromolécules fonctionnelles (Evans *et al.*, 2014). La mesure de l'expression génique est parfois utilisée comme proxy de la synthèse protéique ou macromolécules incluant hormones, récepteurs, enzymes. Cependant, la réponse observée au niveau génique ne correspond pas toujours à la réponse observée sur le plan protéique (Glanemann *et al.*, 2003), en raison de la régulation post-transcriptionnelle et de nombreux facteurs de régulation des activités hormonales et enzymatiques impliqués (Velki *et al.*, 2017).

L'utilité de la transcriptomique est pourtant évidente dans la recherche fondamentale visant à découvrir les mécanismes moléculaires et biochimiques qui sous-tendent un trait phénotypique ou une capacité fonctionnelle dans différentes conditions environnementales. Il est important de souligner qu'une compréhension fondamentale de la façon dont les organismes fonctionnent et réagissent à leur environnement est le pivot d'une biologie appliquée efficace. Bien que les paramètres physiologiques et écologiques traditionnels, tels que la tolérance, la croissance, la reproduction et la survie, fournissent des informations cruciales sur la capacité des populations à persister dans différentes conditions

environnementales, elles ne permettent pas de comprendre les mécanismes sous-jacents à ces réponses physiologiques (Connon *et al.*, 2018). Par exemple, dans une étude de transcriptomique comparative évaluant les différences de tolérance thermique entre deux populations de truites arc-en-ciel écologiquement divergentes (*Oncorhynchus mykiss gairdneri*). Narum et Campbell (2015) ont identifié des modèles adaptatifs d'expression des gènes sous-jacents à l'adaptation thermique aux climats aquatiques plus chauds.

Principes de l'expression génique (ADN, ARNm)

Le concept principal dans le dogme central est que l'ADN ne code pas pour la protéine directement mais agit par une molécule intermédiaire appelée acide ribonucléique (ARN). La structure de l'ARN est similaire, mais pas identique, à celle de l'ADN. La chaîne d'ARN repose sur la présence du ribose plutôt que du désoxyribose. L'ARN est habituellement monocaténaire (pas un duplex), et l'ARN contient une base, l'uracile (U), qui remplace la thymine (T) présente dans l'ADN. La synthèse protéique fait intervenir trois types d'ARN qui jouent des rôles différents. 1) L'ARN messager (ARNm) transporte l'information génétique de l'ADN et est utilisé comme modèle pour la synthèse des protéines. 2) L'ARN ribosomal (ARNr) est un constituant majeur des particules cellulaires appelées ribosomes au sein desquels a lieu la synthèse des protéines. 3) L'ARN de transfert (ARNt), spécifique à un acide aminé et qui incorpore ce dernier dans la protéine par reconnaissance d'un groupe spécifique de trois bases adjacentes dans l'ARNm (Hartl et Jones, 1998).

La synthèse protéique via l'ARN est appelée traduction et peut être examinée de diverses manières, à la fois au niveau des gènes individuels et, de plus en plus ces dernières années, au niveau du génome entier. Par analogie avec la génomique, la somme totale des transcrits d'ARN d'un organisme est parfois appelée transcriptome et l'expression transcriptionnelle d'un gène peut être estimée en mesurant directement le niveau d'ARN messager (ARNm) (Clark *et al.*, 2019b). Dans un premier temps, les régions codantes et non codantes de l'ADN sont transcrites en ARNm. Certaines régions sont éliminées (introns) pendant le traitement initial de l'ARNm. Les exons restants sont ensuite épissés ensemble, et

la molécule d'ARNm épissée (en rouge dans la figure 4) est préparée pour l'exportation hors du noyau par addition d'un capuchon d'extrémité (sphère) et d'une queue polyA. Une fois dans le cytoplasme, l'ARNm peut être utilisé pour construire une protéine (Figure 4) (O'Connor et Adams, 2010).

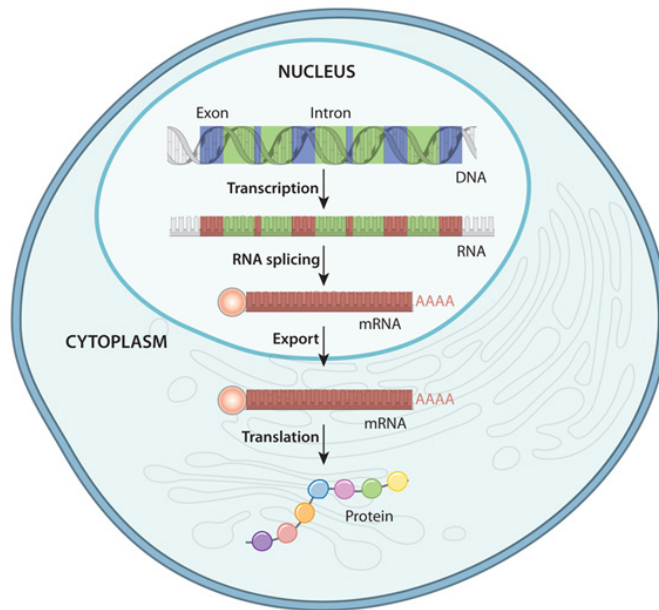


Figure 4. Aperçu du flux d'informations de l'ADN vers la protéine chez un eucaryote (O'Connor et Adams, 2010).

De toutes les avancées techniques de la biologie moléculaire moderne, la réaction en chaîne par polymérase (PCR) est l'une des plus utiles et elle fournit un moyen d'amplifier des séquences d'ADN distinctes, en commençant par des quantités incroyablement infimes d'ADN et aboutissant à de grandes quantités de copies identiques suffisantes pour l'analyse.

LA SÉLECTION COMME FACTEUR DÉTERMINANT DE LA CROISSANCE CHEZ LES POISSONS D'INTÉRÊT AQUACOLE

La croissance est un trait qui est modulable génétiquement. Pour les poissons, ce trait est notamment contrôlé en aquaculture, à travers des programmes de sélection génétique. Un

programme d'élevage des poissons est conçu avec le but de produire des animaux qui utilisent plus efficacement les aliments disponibles, l'espace et les ressources en eau pour augmenter la productivité et améliorer la qualité des produits d'élevage, tout en maintenant le bien-être des animaux (Gjedrem, 2005). L'élevage sélectif pour une croissance améliorée sélectionne généralement les plus grands individus matures à reproduire pour la génération future, en utilisant une sélection de masse, familiale ou individuelle (Tymchuk *et al.*, 2009). Avant qu'un programme de sélection puisse être établi, un objectif de sélection doit être défini, des estimations de la variance génétique, de l'héritabilité, des corrélations phénotypiques et génétiques entre les caractères doivent être disponibles (Gjedrem, 2005). D'autres différences de comportement, de morphologie et de physiologie surviennent tout au long du processus de sélection ou de domestication (Mignon-Grasteau *et al.*, 2005).

En comparant directement l'expression des gènes dans les souches sauvages, domestiques et transgéniques (GH) chez le saumon coho, Devlin *et al.* (2009) ont constaté que la domestication et la transgénèse de la GH (incorporer un gène d'un autre organisme dans leur génome) modifient des voies génétiques similaires. Des gènes spécifiquement impliqués dans la régulation de la croissance (*igf-1*, *gh-r*, *igf-2*) sont régulés de la même façon chez les poissons domestiques et transgéniques, et les deux souches présentent des niveaux élevés d'IGF-1 circulant dans le plasma. Les mêmes auteurs ont également montré que l'expression de *gh* musculaire était élevée chez les poissons domestiques par rapport au type sauvage, offrant un mécanisme possible pour l'amélioration de la croissance. Chez des truites arc-en-ciel, Tymchuk *et al.* (2009) ont trouvé que les profils hormonaux (incluant GH et IGF-I) sont corrélés avec les mesures de croissance, ce qui indique que les poissons domestiques à croissance plus rapide ont tendance à avoir des niveaux plus élevés d'IGF-I et dans une moindre mesure, de GH. Même lorsque des souches domestiques et sauvages sont appariées en taille, on peut noter des différences significatives dans les niveaux d'expression d'ARNm d'IGF-I et GH dans l'hypophyse. Il est également clair, cependant, que le contrôle endocrinien de la croissance et du comportement se produit à travers un réseau complexe d'interactions entre différentes hormones, y compris l'axe GH / IGF-I. Bien que des recherches antérieures

soutiennent la conclusion que la domestication a modifié les profils hormonaux aux niveaux moléculaire et enzymatique, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour isoler les modifications spécifiques qui sont à l'origine des différences physiologiques et comportementales entre différents phénotypes (Tymchuk *et al.*, 2009).

Chez la truite arc-en-ciel, les poissons domestiques ont plus de gènes sous exprimés dans le cerveau que les poissons sauvages, tandis que plus de gènes sont surexprimés dans le foie et le muscle des individus domestiques. On peut observer une régulation à la baisse de la division cellulaire chez les poissons sauvages et une régulation à la hausse des gènes structuraux dans le cerveau des poissons domestiques (Tymchuk *et al.*, 2009). L'analyse des catégories fonctionnelles du muscle a indiqué que la plupart des voies liées au métabolisme et au catabolisme, étaient surexprimées chez les poissons domestiques (Devlin *et al.*, 2009). La comparaison de ces résultats avec d'autres études d'expression de gènes chez les salmonidés transgéniques, domestiques et sauvages suggère que des voies physiologiques similaires sont modifiées de manière systémique pour soutenir des taux de croissance plus rapides, quelle que soit la modification génétique sous-jacente qui stimule la croissance.

L'ENVIRONNEMENT COMME FACTEUR DÉTERMINANT DE LA CROISSANCE ET DU MÉTABOLISME CHEZ LES POISSONS

Les poissons vivent et se reproduisent dans des conditions changeantes de température, de salinité, de pH, de pression, de niveaux d'oxygène et de disponibilité alimentaire. L'adaptation à bon nombre de ces situations implique la modulation des voies métaboliques, et impacte en cascade la croissance (Evans *et al.*, 2014). Au cours des dernières années, l'application d'une approche endocrinienne et enzymatique a démontré son potentiel à fournir des informations cruciales sur la variation de la croissance et du métabolisme des poissons sauvages à la fois à court terme et entre zones spatiales (Hack *et al.*, 2018). En particulier, la mesure de *igf-1* fut un des outils les plus importants dans la compréhension de la croissance des poissons, permettant ainsi une gestion plus efficace des stocks de poissons sauvages (Hack *et al.*, 2018).

Chez les poissons sauvages, les niveaux d'IGF-1 reflètent probablement une réponse combinée aux changements saisonniers des conditions environnementales. Pour plusieurs auteurs (Beckman *et al.*, 1998; Pérez-Sánchez *et al.*, 2002; Nordgarden *et al.*, 2006; Beckman, 2011), la mesure de l'IGF-1 a été établie comme un outil physiologique puissant pour évaluer la croissance des poissons détenus dans des environnements contrôlés ; cependant, l'utilisation de l'IGF-1 comme outil écologique pour identifier les conditions de croissance différentielles parmi les groupes de poissons sauvages occupant différentes parcelles d'habitat, utilisant des ressources alimentaires alternatives ou soumises à des densités de population différentes est moins bien développée (Beaudreau *et al.*, 2010). Andrews *et al.* (2011) ont aussi constaté que le niveau d'IGF-1 plasmatique était lié à la croissance instantanée de la morue-lingue juvénile et que les niveaux d'IGF-1 étaient très variables d'un site de capture à l'autre. Des analyses multivariées ont montré que les modèles spatiaux de l'IGF-1 différaient de ceux des mesures biologiques traditionnelles. Selon Andrews *et al.* (2011), ces résultats montrent que l'IGF-1 peut être utilisé comme indicateur écologique. Les processus neuroendocriniens relient les signaux environnementaux aux réponses régulées au niveau des différents tissus. Des recherches récentes ont révélé un certain nombre de gènes candidats potentiellement impliqués dans l'adaptation au changement climatique. Par exemple, des changements dans l'expression de *cox* ont été associés à l'acclimatation à des températures chaudes chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) (Little *et al.*, 2020). D'autres ont montré que les réseaux de régulation génétique et les effets épigénétiques peuvent être particulièrement pertinents pour l'évolution induite par le changement climatique (Franks et Hoffmann, 2012). Bien que les données génétiques et génomiques s'accumulent rapidement, nous avons encore beaucoup à apprendre sur l'architecture génétique de l'adaptation aux changements climatiques (Franks et Hoffmann, 2012). Pour cette raison, plus d'études sont nécessaires pour bien comprendre l'impact de l'environnement sur la croissance et le métabolisme des poissons sauvages.

OBJECTIF DE RECHERCHE

L'objectif général de ce travail est d'approfondir nos connaissances sur les boucles de régulation de la croissance et le métabolisme à l'aide d'une approche transcriptomique et d'identifier des indicateurs physiologiques au niveau moléculaire qui pourront être utiles dans la gestion d'espèces d'intérêt commercial. Les deux espèces cibles choisies représentent dans ce cas les secteurs aquacole (omble de fontaine) et des pêches (sébeste).

LES MODÈLES BIOLOGIQUES UTILISÉS DANS CETTE ÉTUDE

Omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*)

L'omble de fontaine, est un salmonidé endémique du nord-est de l'Amérique du Nord et largement répandu. La maturation sexuelle commence tôt au cours de l'été, la reproduction se produit à l'automne et les embryons se développent à basse température pendant l'hiver. À l'éclosion, les alevins vésiculés dépendront des nutriments stockés dans leur sac vitellin jusqu'à ce qu'ils atteignent le stade de la nage et puissent se nourrir à partir de sources exogènes. La durée de la phase de croissance des juvéniles sera très variable selon les populations (McCormick *et al.*, 1985). En captivité, la maturation sexuelle peut se produire dès 0+ chez les mâles et 1+ chez les femelles en fonction des conditions d'élevage, de la croissance, des conditions de température ou de la qualité des sources alimentaires. En revanche, à l'état sauvage, la croissance ne peut pas être aussi soutenue et le stade juvénile dure beaucoup plus longtemps (Castonguay *et al.*, 1982). À l'état adulte, les ombles de fontaine ont un corps allongé, fusiforme et légèrement comprimé latéralement. La taille moyenne est de 20 à 30 cm. Ils présentent une coloration très variable selon l'habitat, avec des tâches pâles sur fond sombre, et la coloration est plus intense en période de frai (Forêts, Faune et Parcs Québec, 2016) (Figure 5).



Figure 5. Omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) (Forêts, Faune et Parcs Québec, 2016)

Chez cette espèce, Crespel *et al.* (2013a) ont étudié la variation phénotypique liée à la croissance chez des poissons en domestication. Ils ont démontré que la masse corporelle était un trait héréditaire chez trois souches, la Domestique (en usage au Québec depuis plus de cent ans et qui provient de nombreux croisements entre deux souches d'eau douce : Nashua et Baldwin), la Laval et Rupert (récemment domestiquées), mais que le niveau d'héritabilité était très différent selon les souches. Ils ont aussi démontré que les estimations de l'héritabilité de chaque souche variaient différemment selon les conditions d'élevage et les corrélations entre milieux, indiquant des modèles spécifiques d'interactions génotype – environnement. Les estimations de l'héritabilité ont également varié au cours de l'ontogénie et ont diminué de 50% entre 9 et 21 mois de vie du poisson.

Afin d'obtenir de meilleurs avantages en production aquacole, un programme de sélection a été lancé avec une population sauvage d'omble de fontaine anadrome *Salvelinus fontinalis* de la rivière Laval, au Québec (Bastien *et al.*, 2011). L'objectif était de développer une nouvelle souche caractérisée par une croissance améliorée et un indice réduit de maturation sexuelle précoce. Une lignée contrôle a été maintenue en utilisant des croisements aléatoires, mais n'impliquant pas de croisements sœurs/frères. Une comparaison entre les générations produites a montré que le poids des poissons à 22 mois dans la lignée sélectionnée augmentait de 23,1% de la génération F1 à la génération F2 et de 32,1% de la génération F2 à la génération F3. La lignée contrôle a augmenté de manière similaire en poids de la génération F1 à la génération F2 (34,7%), mais de très peu chez la génération suivante

(4%). Les auteurs expliquent la forte augmentation entre F1 et F2 par un effet de domestication (Bastien *et al.*, 2011).

Ce processus de sélection a eu des effets significatifs sur le transcriptome à travers les générations. Sauvage *et al.* (2010) ont documenté les impacts de la domestication en utilisant la même souche d'omble de fontaine et en mesurant les changements dans l'expression des gènes après trois générations de croisements, afin d'identifier les processus biologiques ciblés par le régime de sélection ainsi que leurs modes de transcription. Les résultats ont montré que les gènes impliqués dans la croissance (par exemple le facteur de croissance transformant bêta) étaient généralement exprimés à des niveaux plus élevés dans la population sélectionnée, tandis que les gènes associés à d'autres fonctions biologiques comme l'immunité, la défense et le métabolisme des nucléosides, des nucléotides et des acides nucléiques étaient généralement exprimés à des niveaux inférieurs dans la lignée sous sélection que dans la lignée contrôle. À l'inverse, certains gènes antagonistes de la croissance (par exemple les précurseurs des sous-unités alpha de Meprin A, capables de cliver les facteurs de croissance) ont été fortement exprimés chez les contrôles.

Cependant, cette étude de Sauvage *et al.* (2010) basée sur l'utilisation de biopuces n'a pas permis d'identifier des gènes fonctionnels clés présents dans la boucle de régulation cerveau/hypophyse/foie/muscle qui pourraient nous permettre d'identifier des cibles d'intérêt. C'est pourquoi il est important d'approfondir notre compréhension des facteurs de régulation de la croissance qui agissent distinctement au sein d'une même cohorte. Cela pourrait alors nous permettre de mieux comprendre les fortes différences de croissance interfamiliales et les processus de croissance sur lesquels agissent la sélection afin de trouver ultimement des outils qui permettront d'effectuer de la sélection génétique sur la base de marqueurs génétiques. Pour ce faire, nous utiliserons une espèce dont nous maîtrisons l'ensemble du cycle de production, l'omble de fontaine *Salvelinus fontinalis*.

Sébaste atlantique (*Sebastes metella*)

Il y a deux espèces de sébaste dominantes dans les pêches commerciales de l'Atlantique Nord-Ouest : *Sebastes mentella* et *S. fasciatus*. La présence d'individus hybrides

a aussi été confirmée dans le golfe du Saint-Laurent et dans le chenal Laurentien (MPO, 2012). Cependant la ressemblance morphologique entre les deux espèces et la difficulté à les différencier a empêché de réaliser plus des recherches biologiques au niveau de l'espèce, malgré leur importance commerciale. La détermination de l'âge et la connaissance des processus de croissance sont parmi les questions les plus importantes, mais non résolues dans la recherche sur le sébaste dans l'Atlantique Nord (Saborido-Rey *et al.*, 2004).

En général, le sébaste est un poisson à croissance lente et à longévité élevée qui peut généralement vivre jusqu'à 40 ans et exceptionnellement jusqu'à 75 ans. Une telle longévité implique un taux de mortalité naturelle faible, mais la prédation des sébastes juvéniles peut être un important facteur de mortalité dans certains écosystèmes (Campana *et al.*, 1990). Les femelles croissent plus rapidement que les mâles. En moyenne, le sébaste prend de 7 à 8 ans pour atteindre la taille minimale légale de capture de 22 cm (Brassard *et al.*, 2017).



Figure 6. Sébaste (*Sebastes mentella*) (Brim, 2015)

Dans certaines populations de poissons incluant le sébaste, lorsque des croissances sont mesurées au cours de la vie, des changements brusques sont observés, avec des variations soudaines du taux de croissance. Les changements brusques des taux de croissance les plus communément signalés sont ceux liés à la métamorphose larvaire ou à la maturation (Saborido-Rey, 1994). Chez les sébastes, les changements brusques du taux de croissance précèdent et suivent un âge de 5 ou 6 ans, et il est difficile d'expliquer ce changement, car la métamorphose est terminée depuis longtemps et l'âge à la maturité est d'environ 10 ans (Saborido-Rey *et al.*, 2004).

La plupart des études liées à la croissance chez le sébaste ont été faites en utilisant l'analyse des otolithes (Penney and Evans, 1985; Saborido-Rey *et al.*, 2004; Stransky *et al.*, 2005; Campana *et al.*, 2016). Sur la côte est du Canada, Campana *et al.* (2016) ont démontré des taux de croissance et une longévité significativement différente entre *S. mentella* et *S. fasciatus* et parmi les populations et les stocks, avec une longévité maximale observée de 70 ans. Cependant, les connaissances au niveau de la physiologie de la croissance chez le sébaste sont très limitées. Une des principales raisons est que les méthodes directes sont difficiles à mettre en œuvre chez le sébaste en raison du faible taux de survie lorsque les poissons sont capturés (Saborido-Rey *et al.*, 2004).

Une des rares études physiologiques sur le sébaste a été faite récemment chez le sébaste olive (*S. serranoides*; Hack *et al.*, 2018). Ces auteures ont montré que les concentrations plasmatiques d'IGF-1 pouvaient servir d'indicateur de croissance somatique lors d'une expérience faite avec deux rations alimentaires différentes (1% et 4% de masse humide). Dans cette étude, les juvéniles qui ont mangé la ration la plus élevée ont augmenté leur masse de 60%. Ceci était corrélé positivement à la quantité de transcrits *igf-1* dans le plasma, bien qu'il n'y ait eu aucune corrélation avec ces quantités au niveau hépatique. Dans le muscle, seulement les niveaux d'ARNm des protéines *igf-bp5a* et *igf-bp5b* différaient entre les deux groupes et étaient plus élevés chez les poissons ayant reçu une ration de 4%.

En matière d'habitat, les connaissances actuelles demeurent très partielles, particulièrement pour *S. mentella*. Cependant, la disponibilité de l'habitat physique ne semble pas représenter un facteur limitant quant à l'abondance du sébaste (MPO, 2011). Dans la région du golfe du Saint-Laurent et du chenal Laurentien, *S. mentella* est prédominant dans les principaux chenaux, à des profondeurs allant de 350 à 500 m, et en général les sébastes adultes privilégient des températures de 4,5 à 6°C. Le sébaste vit en général près du fond et sa distribution dans la colonne d'eau varie selon la saison (Campana *et al.*, 2007). Il s'est donc adapté à une diversité de niches écologiques (Cadrin *et al.*, 2010).

La pêche au sébaste dans le golfe du Saint-Laurent a été marquée par des épisodes d'exploitation intenses (1954-56, 1965-1976 et 1987-1992). Après une chute rapide des débarquements en 1993 et 1994, la pêche dirigée a été fermée à partir de 1995. En 1998, une

pêche indicatrice a été instaurée avec un total autorisé des captures (TAC) de 1000 t, cette pêche est toujours en vigueur avec un TAC de 2000 t par an depuis 1999 (Brassard *et al.*, 2017). En 2010, le comité sur la situation des espèces en péril au Canada (COSEPAC) a désigné *S. mentella* comme étant en voie de disparition. Cependant, en 2011 le stock de *S. mentella* a connu un très fort recrutement dont les causes nous sont inconnues.

De par la longévité du sébaste, cette cohorte, appuyée par les cohortes de 2012 et 2013, devrait soutenir les pêches commerciales durant plusieurs décennies, mais cette explosion du sébaste du golfe constitue un événement déstabilisateur pour le secteur halieutique. Afin de prendre des décisions sur l'exploitation de cette nouvelle ressource, il est important d'évaluer adéquatement l'évolution de ce stock, mais la littérature n'offre que très peu d'informations sur sa biologie en général et rien sur sa physiologie. Il est donc nécessaire de vérifier si l'étude de la chaîne de régulation de la croissance chez *S. mentella* telle qu'utilisée pour l'omble de fontaine pourrait nous aider à déterminer des différences spatiales de potentiel de croissance entre des juvéniles capturés dans différentes zones de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent (variabilité spatiale potentiellement associée aux caractéristiques biotiques et abiotiques de l'habitat).

Pour répondre à l'objectif général de cette thèse qui est d'approfondir nos connaissances sur les boucles de régulation de la croissance et le métabolisme à l'aide d'une approche transcriptomique et d'identifier des indicateurs physiologiques au niveau moléculaire qui pourront être utiles dans la gestion d'espèces d'intérêt commercial, ce travail se décompose en trois objectifs principaux :

Objectif 1. Comprendre comment le processus de sélection génétique modifie, au niveau moléculaire, la voie de régulation de la croissance chez *S. fontinalis*.

Hypothèse 1 : Les niveaux d'expression génique de gènes impliqués dans la régulation de l'appétit (*npv*, *srif-r*, *lep-r*, *grl*), la croissance (*gh*, *ghr-1*, *igf-1*, *igf-1r*) et la construction

musculaire (*mhc*, *myog*) seront plus élevés chez les individus des familles sélectionnées leur permettant ainsi d'avoir un potentiel de croissance plus importante.

Objectif 2. Vérifier si, au sein d'une même famille d'omble de fontaine, le processus de sélection a les mêmes effets au niveau de l'expression génique chez des individus présentant des potentiels de croissance différents.

Hypothèse 2 : Au sein d'une même famille issue de la sélection, les niveaux d'expression des gènes cibles au niveau du cerveau, de l'hypophyse, du foie et des muscles et qui sont impliqués dans la régulation de l'appétit, la croissance et la construction musculaire seront différents entre les individus ayant une croissance élevée et les individus ayant une croissance faible.

Objectif 3. Déterminer comment l'environnement naturel influence la boucle de la régulation de la croissance et du métabolisme au niveau moléculaire.

Hypothèse 3 : Les niveaux d'expression génique aux différents paliers de la boucle de la régulation de la croissance (foie, muscle) et du métabolisme (muscle, cœur) seront différents en fonction du site de capture (température, salinité) chez des sébastes issus de la même cohorte.

CHAPITRE 1

RÉGULATION DE LA CROISSANCE CHEZ L'OMBLE DE FONTAINE

Salvelinus fontinalis

1.1 RÉSUMÉ

Après cinq générations de sélection génétique sur la base de la meilleure croissance chez les individus ne présentant pas de maturité sexuelle précoce à 1+, nous avons examiné l'impact de cette sélection sur les voies de régulation de la croissance dans le cerveau, l'hypophyse, le foie et les muscles. À l'âge de 1+, des individus de quatre des familles les plus performantes et de quatre des familles les moins performantes ont été échantillonnés dans chaque lignée (contrôle et sélectionnée). Les niveaux d'expression de trois gènes de référence et de 10 gènes cibles ont été analysés par PCR en temps réel. Les résultats ont montré qu'une meilleure performance de croissance (poids et longueur) dans la lignée sélectionnée était associée à une régulation positive de l'expression des gènes impliqués dans l'axe de l'hormone de croissance (GH)/facteur de croissance insulinique-1 (IGF-1), y compris le récepteur *igf-1r* dans l'hypophyse, le récepteur *ghr* et *l'igf-1* dans le foie ainsi que *ghr* et *igf-1r* dans le muscle blanc. En ce qui concerne l'expression des gènes au sein des familles, la performance familiale et les phénotypes individuels ont été associés à des différences dans les gènes liés à la régulation de l'appétit, avec des régulations positives du récepteur de la leptine *lepr* et le neuropeptide γ *npy* dans les phénotypes à croissance lente. Cependant, d'autres gènes liés à l'appétit (ghréline, somatostatine) ou impliqués dans la croissance musculaire (myosine à chaîne lourde, myogénine) n'ont pas été exprimés de façon différentielle. Cette étude met en évidence la façon dont la transcriptomique peut être utile pour comprendre les rôles des différentes étapes endocriniennes clés régissant la performance physiologique. De grandes variations existent encore dans la lignée sélectionnée, ce qui indique que le potentiel de sélection génétique n'a pas encore été atteint.

Ce premier article, intitulé « *How a selection breeding program modifies growth regulation in brook charr *Salvelinus fontinalis** », contient les résultats du premier et deuxième objectif. La décision de faire un seul article a été prise, car il y avait plusieurs éléments du premier objectif nécessaires pour analyser le deuxième. Il sera soumis pour publication dans la revue *General and Comparative Endocrinology*. En tant que premier auteur, ma contribution à ce travail fut l'essentiel de la recherche sur l'état de l'art, la mise au point de la méthode, les analyses de laboratoire et de résultats et la rédaction de l'article. Aurélie Prinnet, seconde auteur, a contribué à la planification et réalisation de l'expérience et l'échantillonnage, Marie Vagner, troisième auteur, a contribué à la planification, l'analyse de résultats et la révision de l'article. Caroline Houle et Dany Garant, quatrième et cinquième auteurs, ont contribué à l'analyse statistique et la révision de l'article. Louis Bernatchez, sixième auteur, a contribué à la planification des expériences et la révision de l'article. Céline Audet, dernier auteur a fourni l'idée originale et a contribué aux analyses de laboratoire et de résultats, ainsi qu'à la rédaction de l'article. Une version abrégée de cet article a été présentée à la *réunion annuelle du RAQ* (Ressources Aquatiques Québec) à Québec à l'automne 2018, au *Colloque d'écophysiologie animale* à Rennes (France) à l'automne 2019, au *Congrès Franco-Canadienne de Sciences Aquatiques* à Saint-Pierre-et-Miquelon (France) à l'automne 2020, ainsi qu'à la *Réunion annuelle du RAQ* à Québec à l'automne 2021.

Growth regulation in brook charr *Salvelinus fontinalis*

Martínez-Silva Maria A.¹, Dupont-Prinet Aurélie¹, Houle Carolyne², Vagner Marie³, Garant Dany², Bernatchez Louis⁴, Audet Céline¹

¹Institut des sciences de la mer de Rimouski, Université du Québec à Rimouski, Rimouski, QC, G5L 3A1, Canada

²Université du Sherbrooke, Faculté de Biologie, Laboratoire d'écologie moléculaire et évolutive, Sherbrooke, QC, J1K 2R1, Canada

³Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin, UMR 6539 (CNRS/Univ Brest/IRD/Ifremer), Plouzané, 29280, France

⁴Université du Laval, Département de Biologie, Québec, QC, G1V 0A6, Canada

1.2. ABSTRACT

Fish growth can be modulated through genetic selection. However, it is not known whether growth regulatory mechanisms modulated by genetic selection can inform about growth phenotypic variation throughout families or populations. After a five-generation breeding program selecting for the absence of early sexual maturity and growth in brook charr conducted in our lab, we examined the impact of this selection on growth regulation pathways at the molecular level in the brain, hypophysis, liver, and muscle. At age 1+, individuals from four of the highest and four of the lowest growth performant families were sampled in each line (control and selected). The gene expression levels of three reference and ten target genes were analyzed by real-time PCR. Results showed that better growth performance (in terms of weight and length at age) in the selected line was associated with

an upregulation of the expression of genes involved in the growth hormone (GH)/insulin growth factor-1 (IGF-1) axis, including *igf-1 receptor* in pituitary, *gh-1 receptor*, and *igf-1* in liver as well as *ghr* and *igf-1r* in white muscle. When looking at gene expression within families, family performance and individual phenotypes were associated with upregulations of *leptin receptor* and *neuropeptid y*, genes related to appetite regulation, in the slower-growing phenotypes. However, other genes related to appetite (*ghrelin*, *somatostatin*) or involved in muscle growth (*myosin heavy chain*, *myogenin*) were not differentially expressed. This study highlights how transcriptomics may improve our understanding pertaining to the roles of different key endocrine steps regulating physiological performance. Large variations still exist in the selected line, indicating that the full genetic selection potential has not been reached.

Keywords: Selection, Phenotype, Growth, Transcriptomics, *gh/igf-1* axis, Appetite regulation

1.3. INTRODUCTION

Fish reproductive success in nature is determined not only by the number of offspring that an individual produces, but also by how many offspring survive to reproductive maturity (Clutton-Brock, 1988). Large males, which may be preferred by females, can dominate competitors in contests for mates or breeding territories, and large females can produce more and larger offspring than small ones (Perry *et al.*, 2005; Anderson *et al.*, 2010). Aquaculture production aims to produce large fish that would invest in growth instead of reproduction and that would best adapt to the captive environment (Gjedrem, 2005; Sauvage *et al.*, 2010; Bastien *et al.*, 2011). Selective breeding exploits the substantial genetic variation that is present for desirable traits. Thus, a high growth rate as well as the absence of early sexual maturity are the most used criteria since energy is preferentially invested in growth rather than in gamete production (e.g., Nilsson, 1990; Bastien *et al.*, 2011).

Growth in teleosts is controlled at the endocrine level, mainly by the growth hormone (GH)/insulin factor 1 (IGF-1) axis (Björnsson, 1997; Wood *et al.*, 2005; Duan *et al.*, 2010; Vélez *et al.*, 2017). GH, synthesized by the pituitary gland, regulates many functions, including somatic growth, energy metabolism, reproduction, digestion, osmoregulation, and immune function (Kawaguchi *et al.*, 2013). The release and synthesis of GH in the brain and peripheral tissues are i) stimulated by neuroendocrine factors, such as neuropeptide Y (NPY) (Aldegunde and Mancebo, 2006) and ghrelin (GRL) (Björnsson *et al.*, 2002), and ii) inhibited by somatostatin (SRIF, mainly synthesized in the brain) (Nelson and Sheridan, 2005; Very and Sheridan, 2007; Sheridan and Hagemester, 2010; Volkoff *et al.*, 2010). GH stimulates the production of liver IGF-1 (Volkoff *et al.*, 2010), so its physiological effects are usually indirect, via IGF-1 actions. Appetite regulation is another key process controlling growth and is regulated by hormones also acting as appetite stimulators (i.e., orexigenic factors: NPY and GRL) (Breton *et al.*, 1989; Cerdá-Reverter and Larhammar, 2000; Björnsson *et al.*, 2002) or appetite inhibitors (i.e., anorectic factors: leptin LEP) (Hoskins and Volkoff, 2012; Dar *et al.*, 2018). The continued production of muscle fibres is another important process that controls fish growth (Ahammad *et al.*, 2015). Teleosts are unique among vertebrates because of their continued growth due to the continuous production of muscle fibres from birth to death (Ahammad *et al.*, 2015). Some key myofibrillar proteins such as myosin, actin, tropomyosin, and troponin are specifically expressed in muscle tissue and are involved in its contraction (Skaara and Regenstein, 1990; Zhang *et al.*, 2011). Other myogenic factors involved in tissue differentiation and maturation processes, such as myosin heavy-chain (MHC) and myogenic regulatory factor (MRF4), are key for understanding growth-regulating mechanisms (Vélez *et al.*, 2016).

Few studies have focused on how the selection process affects growth regulation in brook charr. In brook charr, Sauvage *et al.* (2010) reported that selective breeding led to a 4.16% difference in expressed genes between the control and domesticated lines at the juvenile stage. In particular, they observed that genes involved in growth pathways (e.g., transforming growth factor b and T complex protein 1) were generally more highly expressed

in the selected line than in the control line. Studies in other salmonids evaluated the effects of domestication on growth (Devlin *et al.*, 2009; Tymchuk *et al.*, 2009) and the relationship between genomics and selection in aquaculture based on the study of divergence and genome size (Hessen *et al.*, 2010; Pankova *et al.*, 2017). However, no one has looked at the growth regulation pathways occurring in the different tissues on brook charr, and that is the objective of the study presented here.

Selective breeding is particularly well-developed for brook charr *Salvelinus fontinalis*, for which several studies have been carried out with both anadromous (seawater migratory) and resident fish (Laval strain, Québec). Perry *et al.* (2004) showed that higher fertility was associated with higher mean fry length, suggesting that stabilizing selection for juvenile length occurred prior to yolk sac resorption. Furthermore, parental-based genetic variance for early size traits appears to be partially segregated at the embryo–fry boundary, with maternal genetic variance being high prior to yolk sac resorption and relatively low thereafter (Perry *et al.*, 2004, 2005). Significant heritability for traits related to the accumulation and use of energy reserves was found for two among three different strains used by the Quebec fish-farming industry, which include the Laval strain (Crespel *et al.*, 2013). Domestication has led to large increases in fish weight: for *S. fontinalis* from the same Laval strain, the weight of selected fish at age 22 months increased by 23% between the F1 and F2 generation and by 32% from F2 to F3 (Bastien *et al.*, 2011).

The main goal of this work was to understand how the genetic selection process modifies the growth regulatory pathway of brook charr at the molecular level. We tested the hypothesis that selection enhanced the differential expression of genes involved in the GH/IGF-1 axis and in the appetite control as well as in muscle growth between slow- and fast-growing phenotypes and family performance. We also wanted to find molecular indicators that could be implemented in a selection program to enhance sustainable production for brook charr aquaculture.

1.4. METHODOLOGY

1.4.1 Selection process

A selective breeding program described by Bastien *et al.* (2011) and Sauvage *et al.* (2010) was initiated in 1994 using wild *S. fontinalis* from the Laval River (Québec; 48.449° N, 68.059° W). Briefly, a combined between- and within-family selection protocol was applied based on i) the absence of precocious sexual maturation at 22 months and ii) growth performance in sexually immature fish. A control line was created and maintained over the same period, which allowed us performing studies aimed at tracking the genetic, and phenotypic temporal changes occurring in the selected vs. control strains reared in the exact same environment. It is important to note that this control group—even if it was not selected by the criteria of growth and absence of maturity—can be considered as domesticated across generations (non-directed selection). Fish were healthy throughout this study, and we encountered no problem in maintaining all families and lines.

1.4.2 Sampling

We used the progeny of 13 families from the selection line and 16 families from the control lines, both from an F5 generation (N = 4471 individuals: 2078 selected and 2393 controlled). Individuals from the four families with the largest mean weight (high performance families) and the four families with the lowest mean weight (low performance families) were sampled in both the control and selected lines (Table 1). Fish from each family were weighed (± 0.1 g) and measured (± 0.1 cm) at the age of 18 months (1+) after being anaesthetized (3-aminobenzoic acid ethyl ester, 0.16 g/L). Fulton's condition factor (K) (Fulton, 1904) was calculated as

$$K = (W L^{-3}) * 100$$

where W is the weight in g and L is the fork length in cm.

Table 1. Growth characteristics of *Salvelinus fontinalis* 1+ families used in the study. Groups were formed according to line (C= control; S= selected) and family performance (L= low; H= high).

Group	Family	n	Weight (g)	Length (cm)	Condition (K)
CL	C19	142	6.14 ± 1.82	8.82 ± 0.79	0.87 ± 0.13
	C16	119	7.19 ± 2.23	9.34 ± 0.99	0.86 ± 0.14
	C1	164	7.21 ± 3.63	8.92 ± 1.31	0.95 ± 0.23
	C18	135	7.43 ± 2.76	9.07 ± 1.10	0.96 ± 0.18
CH	C22	99	9.59 ± 2.45	10.02 ± 0.91	0.93 ± 0.10
	C5	199	10.50 ± 3.42	10.36 ± 1.17	0.91 ± 0.12
	C17	156	10.77 ± 3.66	10.54 ± 1.27	0.89 ± 0.11
	C10	179	11.20 ± 4.00	10.50 ± 1.30	0.93 ± 0.11
SL	S1	147	8.14 ± 2.49	9.62 ± 1.07	0.89 ± 0.08
	S19	164	10.25 ± 3.94	10.21 ± 1.35	0.92 ± 0.17
	S5	157	10.59 ± 3.63	10.55 ± 1.25	0.87 ± 0.10
	S3	178	10.98 ± 4.35	10.25 ± 1.49	0.98 ± 0.19
SH	S11	195	12.97 ± 4.42	10.93 ± 1.31	0.96 ± 0.11
	S12	95	13.27 ± 3.61	11.06 ± 1.07	0.96 ± 0.11
	S8	184	14.01 ± 4.81	11.11 ± 1.37	0.98 ± 0.10
	S13	176	16.09 ± 6.61	11.72 ± 1.69	0.95 ± 0.11

For each of the families (Table 1), the eight heaviest (fast-growing individuals) and the eight lightest (slow-growing individuals) juveniles were sacrificed by severing the spinal cord and used for further molecular analyses (Table 2). The pituitary gland, brain, liver, and white muscle were immediately removed and placed in sterile tubes, frozen in liquid nitrogen, and stored at -80°C pending analyses.

Table 2. Mean weight, length, and condition factor of *Salvelinus fontinalis* at 18 months. C = control, S = selected; L = low, H = high family performance; n = 32 for each group.

Line	Family performance	Phenotype	Group	Weight (g)	Length (cm)	Condition
C	CL	Slow-growing	CLS	5.03 ± 1.39	8.18 ± 0.71	0.90 ± 0.05
		Fast-growing	CLF	12.91 ± 3.03	11.24 ± 0.82	0.90 ± 0.11
	CH	Slow-growing	CHS	6.95 ± 1.04	9.11 ± 0.48	0.92 ± 0.11
		Fast-growing	CHF	19.06 ± 3.85	12.90 ± 0.78	0.88 ± 0.09
S	SL	Slow-growing	SLS	6.33 ± 0.95	8.59 ± 0.54	1.00 ± 0.09
		Fast-growing	SLF	18.57 ± 3.42	12.49 ± 0.87	0.95 ± 0.10
	SH	Slow-growing	SHS	6.62 ± 1.43	8.88 ± 0.62	0.94 ± 0.12
		Fast-growing	SHF	25.59 ± 11.18	13.99 ± 1.27	0.90 ± 0.09

1.4.3 Total RNA and cDNA synthesis

For each fish, liver and brain total RNA were extracted from 30 mg wet weight of tissue. For RNA extraction in pituitary, a pool of eight individuals from a same group was used because of the gland's small size which prevented performing analysis at the individual level. RNA extractions were performed using RNeasy Plus Universal Mini Kit (liver, pituitary, and brain; Qiagen, Inc., Mississauga, ON, Canada) and RNeasy Fibrous Tissue Kit (muscle; Qiagen, Inc., Mississauga, ON, Canada). Extracted RNA was diluted to a final concentration of 200 ng μL^{-1} . RNA purity, quality, and concentration were measured by SYBRSafe DNA Gel Stain 2% agarose gel electrophoresis (Alpha Imager HP System, Alpha-Innotech, Alpha Software, Invitrogen, Inc., California, USA) with an absorbance ratio of 260/280 (NanoVue Plus spectrophotometer, GE Healthcare, Pittsburgh, PA, USA). Reverse transcription of mRNA into complementary DNA (cDNA) was performed in duplicate for each sample and then pooled using the Quantitect reverse transcription kit (Qiagen, Inc., Mississauga, ON, Canada). cDNA was diluted to a final concentration of 200 ng μL^{-1} , separated into aliquots, and kept frozen at -20°C until further analysis. cDNA integrity and concentrations (1.8–2.0) were verified using a NanoVue Plus spectrophotometer. The efficiency of reverse transcription was verified by quantitative polymerase chain reaction (qPCR) using serial dilutions of a representative pool of cDNA samples collected from different sampling sites and compared to the ideal slope of -3.3.

1.4.4 Primer design for target genes

To evaluate the impact of selection on the growth regulation pathway, the expression of the genes present in different tissues were quantified in each sampled fish (except for the pituitary gland). These different tissues included brain (target genes: *npy*, *lep-r*), pituitary (target genes: *gh*, *ghr-1*, *igf-1r*, *grl*, *srifr*), liver (target genes: *igf-1*, *ghr-1*), and muscle (target genes: *igf1r*, *ghr-1*, *mhc*, *myog*).

The first step was to obtain the DNA sequences for *S. fontinalis*, since the sequences were not available for this species. We designed primers from *Salvelinus alpinus* and *Oncorhynchus mykiss* sequences (Table 3) to perform PCR and amplify products of interest in *S. fontinalis*. PCR was performed in 25 μ L reactions containing 12.5 μ L of AmpliTaq Gold 360 (Applied Biosystems), 0.5 μ L of 360 GC enhancer (Applied biosystems), 2.5 μ L of cDNA, 1.25 μ L each of forward and reverse primer (20 mM), and 7 μ L of nuclease-free H₂O. Reactions were amplified under a thermal profile of 95°C for 10 min, 40 cycles at 95°C for 30 s, 60°C for 30 s, and 72°C for 1 min and 20 s, followed by 7 min at 72°C. PCR products were then tested by gel electrophoresis on 2% agarose gels. The amplified PCR products were purified using the QIAquick PCR purification kit (Qiagen) and in forward and reverse sequences using the BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems) with the ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). For each gene, the sequence obtained was compared with the sequence used for primer design with the BLAST® software (Altschul *et al.*, 1990). Sequence lengths and percentages of similarity to the reference sequences are presented in Table 3.

1.4.5 Measurement of gene expression by qPCR

Gene expression was measured by qPCR using the TaqMan technology which involved designing primers and probes specific to brook charr based on the gene sequences obtained in the previous step described above. For pituitary analyses, IDT PrimeTime probes (Table 4) were designed using the PrimerQuest tool (Integrated DNA Technologies, Coralville, IA, USA). For brain, liver, and muscle, TaqMan probes (Table 5) were designed using the Primer Express software version 3.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). For all samples, qPCR gene expression was performed in triplicate using a QuantStudio 3 Real Time PCR System (Applied Biosystems). Each reaction consisted of 2 μ L of diluted cDNA, 5 μ L of TaqMan Fast Advanced Mix, 0.5 μ L of Custom TaqMan Gene Expression Assay, and 2.5 μ L of sterile water, for a total volume of 10 μ L.

Table 3. Information on sequences and primers obtained for *Salvelinus fontinalis*. For each studied gene, we present the species of origin of the sequences used to amplify the gene in brook charr, the designed PCR primers, the amplicon size (number of base pairs [bp]), and the percentage of similarity obtained between the original sequence and the *S. fontinalis* amplified sequence. Abbreviations are as follows: *grl*: ghrelin; *srifr*: somatostatin receptor; *lepr*: leptin receptor; *ghr-1*: growth hormone receptor 1; *igf-1*: insulin-like growth factor 1; *mhc*: myosin heavy chain.

Gene	Sequence used for primer design (accession no.)	Designed primers (5'-3')	<i>S. fontinalis</i> PCR amplicon size (bp)	<i>S. fontinalis</i> sequence similarity
<i>grl</i>	<i>Salvelinus alpinus</i> (XM_023995867)	F – ACTGATGCTGTGTACTCTGGC R – CTCTCAATGTCTCGCCGACC	223	97%
<i>srifr</i>	<i>Oncorhynchus mykiss</i> (NM_001124534)	F – GGGAAAAGACACCGGTTGGA R – TGGTGTGCTGTTAGACCC	273	98%
<i>lepr</i>	<i>Salvelinus alpinus</i> (XM_024004689)	F – CAGTTAGCTACATGTCGGGGA R – GCCGATTTCCAGTAGCTGA	209	97%
<i>ghr-1</i>	<i>Oncorhynchus mykiss</i> (AY861675)	F – TTGCTGATACGGGTCGAACAT R – GAGGGTCTGGTTCCACGATG	431	99%
<i>igf-1</i>	<i>Oncorhynchus mykiss</i> (M95183.1)	F – TCAAGAGTGCGATGTGCTGT R – TTCGGTAGTTCCTTCCCCCT	301	100%
<i>mhc</i>	<i>Salvelinus alpinus</i> (XM_023984421)	F – GTTGAAGATCCGAGTGCAGGT R – CGGGAACAGCTCAGGGATAAC	506	99%

Table 4. qPCR IDT assays used for transcriptomics in *Salvelinus fontinalis* pituitary. Genes (*18s*: 18s ribosomal, *β -actine*: beta actin, *efl- α* : elongation factor 1 alpha, *gh*: growth hormone, *ghr-1*: *gh* receptor 1, *igf-1r*: *igf-1* receptor, *grl*: ghreline, *srifr*: somatostatin), primers (5'-3') (F [forward], R [reverse], P [probe]), bp (number of base pairs), and Tm (melting temperature; °C) are given.

Gene	Primer (5'-3')	bp	Tm
<i>18s</i>	F – CAAGACGAACGAAAGCGAAAG	21	62
	P – AACGAAAGTCGGAGGTTCTGAAGACG	25	68
	R – AGATACCGTCGTAGTTCCGA	20	62
<i>β-actine</i>	F – AGAGAGGTATCCTGACTCTGAAG	23	62
	P – CACCAACTGGGACGACATGGAGAA	24	68
	R – CATCACACCTTCCTACAACGAG	22	62
<i>efl-α</i>	F – ATCGGCGGTATTGGAACAG	19	62
	P – CCTGAAGGCCGGTATGATCGTCAC	24	68
	R – GTGAAGTCTGTGGAGATGCA	20	62
<i>gh</i>	F – GTCGCTAAGACAGGCTCTTG	20	62
	P – CGTCTACAGAGTGCAGTTGGCCTC	24	68
	R – AAGGTCGAGACCTACCTGAC	20	62
<i>ghr-1</i>	F – CCCACTGCCCCCTGTATCT	19	62
	P – CTCAGAAGGAGGCTGTTTTGC	22	71
	R – ACCATGGTGGAAGGAG	16	50
<i>igf-1r</i>	F – CAGCCTCATCACTGTACTCTTC	22	61
	P – AAAGAGGAACAGTGACAGGCTGGG	24	68
	R – CTCAGGGTTGACAGAAGCATAG	22	61
<i>grl</i>	F – CCCAGAAACCACAGGGTAAA	20	61
	P – TTGGTCGGCGAGACATTGAAAGCT	24	68
	R – TTTGTCTTCCTGGTGAAGGG	20	61
<i>srifr</i>	F – CTTAGCTCACAGTAGGAGAAACC	23	62
	P – AATAGACAACATGGCCGCCAATGG	24	67
	R – GACTAGCAACTACCCAGCATAAC	22	62

Table 5. qPCR TaqMan assays used for *Salvelinus fontinalis* transcriptomics in the brain, liver, and muscle. Genes (*18s*: 18s ribosomal, *β -actin*: beta actin, *efl- α* : elongation factor 1 alpha, *npv*: neuropeptide y, *lepr*: leptin receptor, *igf-1*: insulin growth like factor 1, *ghr-1*: gh receptor 1, *igf-1r*: *igf-1* receptor, *mhc*: myosin heavy chain, *myog*: myogenin), primers (5'-3') (F [forward], R [reverse], P [probe]), bp (number of base pairs), and Tm (melting temperature;°C) are given.

Gene	Primer (5'-3')	bp	Tm
<i>18s</i>	F – GATCCATTGGAGGGCAAGTCT	21	59
	P – TGCCAGCAGCCGC	13	69
	R – GATACGCTATTGGAGCTGGAATTAC	25	58
<i>β-actin</i>	F – GGTCGTCCAGGCATCAG	18	59
	P – ATGGTTGGGATGGGC	15	69
	R – CGTCTCCCACGTAGCTGTCTT	21	58
<i>efl α</i>	F – GCCCCTCCAGGATGTCTACA	20	59
	P – AATCGGCGGTATTGGA	16	69
	R – ACGGCCACGGGTACTG	17	59
<i>npv</i>	F – TGCTGAAGAGCTGGCCAAAT	20	60
	P – CTATACCGCGCTCAGAC	17	70
	R – TCTGTCTCGTGATCAGATTGATGTAG	26	58
<i>lepr</i>	F – CAGCATTCTGACATTGCTTTAACA	24	58
	P – TATGGTCTACAACAGTAGCTT	21	68
	R – CACCAATTCAAGGGCGGATA	20	59
<i>igf-1</i>	F – CGGTCACATAACCGTGGTATTG	22	59
	P – CGAGTGCTGCTTCC	14	70
	R – GCCGCAGCTCGCAACT	16	59
<i>ghr-1</i>	F – CCCACTGCCCCCTGTATCT	19	62
	P – CTTCAGAAGGAGGCTGTTTTGC	22	71
	R – ACCATGGTGGAAAGGAG	16	50
<i>igf-1r</i>	F – TCCTCAGTGGGACCCTTCTG	20	59
	P – CCGCCGGACTATAG	14	69
	R – GGACCATGAAGCCCAGTAGGT	21	59
<i>mhc</i>	F – CAAACCACATTGAACACCATCAG	23	59
	P – CACCACACTAGAACTGT	17	69
	R – GGGTTAAGCTTTATTGATACAGGAAGTG	28	60
<i>myog</i>	F – CCTTGGGCCTGCAAGCT	17	58
	P – TGCAAACGCAAGACT	15	69
	R – CGCTTTTCGTTCGGTCCAT	18	58

The thermal cycling of qPCR was done in two steps: (1) 2 min at 50°C for optimal AmpErase uracil-N-glycosylase activity followed by 20 s at 95°C to activate DNA polymerase, and (2) 45 denaturation cycles for 1 s at 95°C and annealing / extension for 20 s at 60°C. Cycle thresholds (CT) were obtained with the QuantStudio Design Analysis software (ThermoFisher Connect). The relative quantification of gene expression was calculated using according to the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method of (Livak and Schmittgen, 2001), with C_T being a threshold cycle:

$$2^{-\Delta\Delta C_T} = 2^{-(\Delta C_{Te} - \Delta C_{Tc})}$$

where $C_{Te} = C_T$ of the candidate gene - C_T of the reference genes for sample x, and $C_{Tc} = C_T$ of the target gene - C_T of the reference genes for the calibrator.

In this study, the calibrator was the CLS group (Control line + Low performance families + Slow-growing phenotype). The stability of reference gene expression between groups was verified with Expression Suite version 1.0, where the score was calculated according to Vandesompele *et al.* (2002). The reference genes were *18s*, *β -actin*, and *ef1 α* , and the best score combination obtained with the QuantStudio Analysis software was kept for each tissue. For accurate averaging of the control genes, we used the geometric mean instead of the arithmetic mean because the former better controls for possible outlier values and abundance differences between the different genes (Vandesompele *et al.*, 2002).

1.4.6 Statistical analyses

One-way ANOVAs ($\alpha < 0.05$) were used to compare familial length, weight, and Fulton condition factor within lines. This allowed to compare growth performance among families and to select the ones used for gene expression as well as the slow- and fast- growing individuals within each family. Data normality was verified using the Kolmogorov-Smirnov test and homoscedasticity was tested using the Levene test (Statistica, version 6.1.478, Statsoft), post-hoc HSD Tukey tests were used. When ANOVA revealed significant differences between groups, post-hoc HSD Tukey tests were used when homoscedasticity

was verified, and multiple range Games-Howell tests were applied in cases of heteroscedasticity.

Data outliers for *grl* (n = 1), *srifr* (n = 2), pituitary *ghr-1* (n = 1), white muscle *myog* (n = 1), and weight (n = 1) were removed before running analyses. Prior to analyses, the following data transformations have been applied to achieved normality: a log transformation for pituitary *grl* and *srifr* as well as for liver *ghr-1*, and a Box-Cox transformation for pituitary *igf-1r* and *ghr-1*; brain *npv* and *lepr*; liver *igf-1*; and white muscle *igf-1r*, *ghr-1*, and *mhc*. A separate linear mixed model (LLM) (R version 4.0.2, package lme4) relating gene expression to length, condition (Fulton index) and line (control or selected) was built for each gene. Family identity was first included in all models as a random effect. Models were simplified by a backward elimination procedure, where the least significant term, based on *P*-value, was sequentially removed, until all remaining variables were significant (*i.e.*, $P \leq 0.05$, confirmed by a LRT). Body weight was not included in the models due to its strong positive correlation with length ($R^2 = 0.9$). Marginal and conditional R-squared were obtained via the *rsquared* function from the *piecewiseSEM* R pacquage (Lefcheck, 2016).

Nested ANOVAs (line and family as factors; phenotype nested in family) were used to compare relative gene expression between phenotypes (slow- and fast-growing), Normality and homoscedasticity were tested and a posteriori test were run as previously described. Finally, the relationships between growth variables (weight, length, and condition) were analyzed using simple linear regressions.

1.5. RESULTS

1.5.1. Weight, length, and condition differences between control and selected lines

On average, fish from the selected line were 37.21% heavier than fish from the control line ($11.95 \text{ g} \pm 4.57$ vs $8.71 \text{ g} \pm 3.36$; $F_{(1,4470)} = 740.42$; $p < 0.001$; Figures 1A and 1B). Their length ($10.76 \text{ cm} \pm 1.38$) was also 11.54% greater than the control line ($9.65 \text{ cm} \pm 1.26$; $F_{(1,4470)} = 793.96$; $p < 0.001$; Figures 1C and 1D). However, condition factor of control line

fish was significantly (albeit only slightly) higher than that of the selected line (0.93 ± 0.14 vs 0.92 ± 0.12 ; $F_{(1,4470)} = 6.98$; $p = 0.0083$; Figures 1E and 1F).

1.5.2 Weight, length, and condition differences among families

Even though the selection process lasted five generations, family effects were still very present in both the selected and control lines. In the selected line, weights of the best and the worse performing families differed by 49.42% ($F_{(12,2077)} = 35.79$; $p < 0.001$) while they differed by 14.82% in the control line ($F_{(15,2392)} = 32.76$; $p < 0.001$).

It is noteworthy that the family with the lowest weight in the selected line was significantly different from the rest of the selected families, but not significantly different from the families of the control line with average and low performance (Figures 7A and 7B).

This same family effect was also observed for length in the selected line: the largest family was significantly bigger—by 7.63%—than the smallest family ($F_{(12,2077)} = 24.96$; $p < 0.001$), and this was even more evident in the control line, where the difference was 14.62% ($F_{(15,2392)} = 35.34$; $p < 0.001$; Figures 7C and 7D).

Weight and length were significantly positively correlated in the selected line ($F_{(1,2076)} = 12814.51$; $p < 0.001$; $\text{Length} = 0.28 * \text{Weight} + 7.32$; $R = 0.927$) as well as in the control line ($F_{(1,2392)} = 16228.92$; $p < 0.001$, $p = 0.00$; $\text{Length} = 0.3493 * \text{Weight} + 6.60$; $R = 0.933$). However, significant albeit very slight correlations were found between condition factor and weight ($F_{(1,4469)} = 15.03$; $p < 0.001$, $R = 0.057$) and between condition and length ($F_{(1,4469)} = 238.36$; $p < 0.001$, $R = 0.22$).

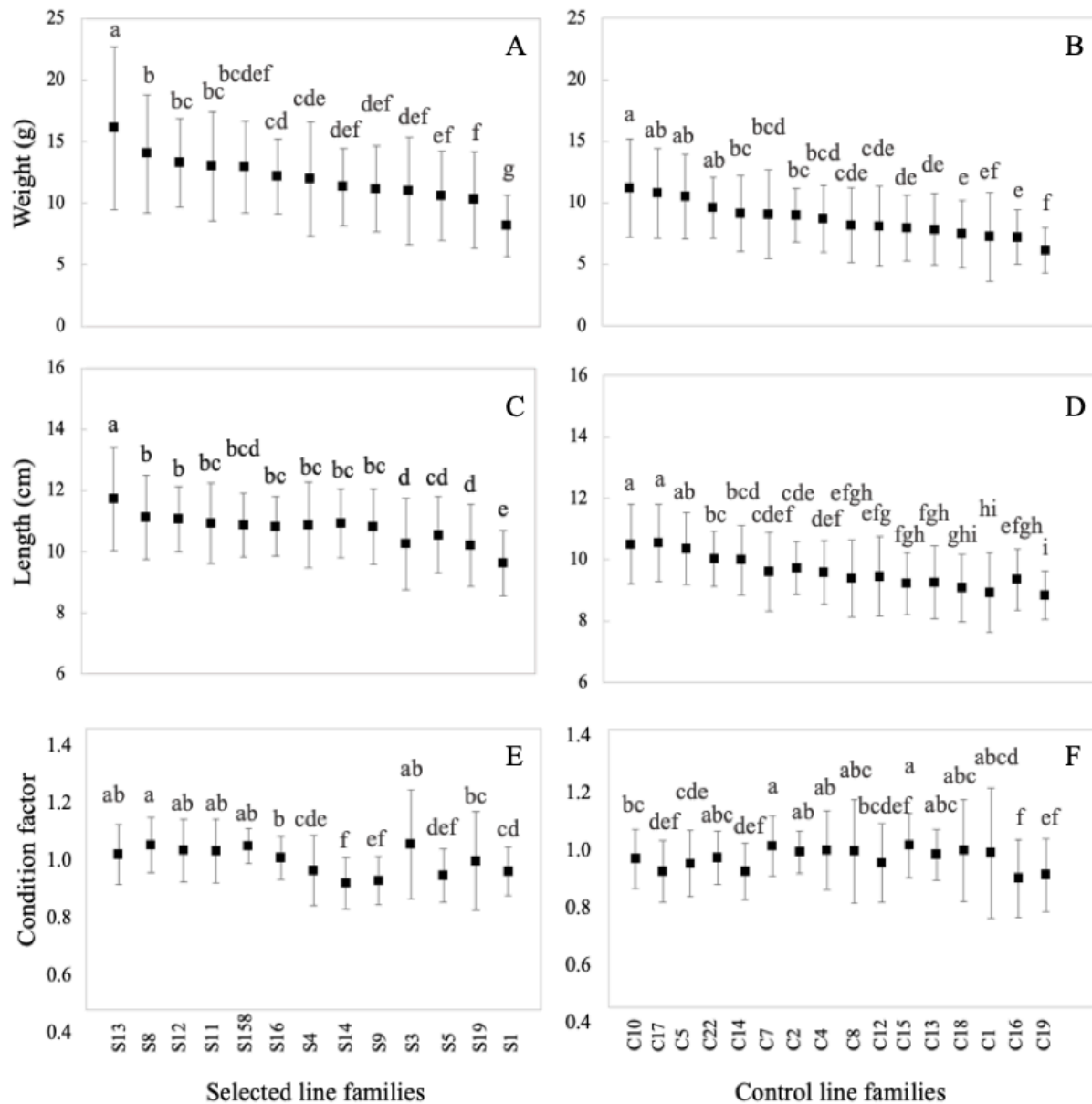


Figure 7. Weight (g), length (cm), and condition factor of 1+ *Salvelinus fontinalis* families from control or selected lines. Significant differences ($p < 0.05$) are shown with different letters. Data are presented as mean \pm SD.

1.5.3 Gene expression

Line and family effects

In the brain, *npv* and *lepr* gene expressions were not different between lines (Table 6), but *lepr* was significantly higher expressed in low performance families ($F_{(1,44)} = 6.85$; $p = 0.012$), while no family effect was found in *npv* (Table 6). The expression of these two genes was not linked to length or condition (Table 6).

Pituitary *grl*, *srifr*, *gh*, and *ghr-1* gene expressions were not different between lines or between families (Table 6). The expression of these genes was not significantly linked to length or condition (Table 6). While pituitary *igf-1r* gene expression was not different between lines ($p = 0.80$) or families ($p = 1$), it was significantly positively linked to length but not with condition (Table 6).

In liver, *ghr-1* and *igf-1* gene expressions were significantly higher in the selected line compared to the control one (Table 6; Figure 8A and 8C), but no family effect was found (Table 6). Expression of the *ghr* gene was negatively impacted by condition) but not with length (Table 6; Figure 8B). On the contrary, *igf-1* gene expression was positively associated with length but not with condition (Figure 8D, Table 6).

In white muscle, *mhc*, *ghr-1*, and *myog* relative expressions were not significantly different between lines (Table 6), while *igf-1r* gene expression was significantly higher in the selected line (Figure 8E, Table 6), and *ghr* expression increased with length (Table 6; Figure 8F). The *mhc*, *ghr-1*, and *igf-1r* gene expressions were not different among families (Table 6).

Table 6. Final generalized linear mixed model (GLMM) of random (family) and fixed (weight, length, condition, and line [selected or control]) effects modifying the the relative expression of genes related to the growth regulation pathway in 1+ *Salvelinus fontinalis* in the different sampled tissues. Symbol ~ indicates “in function of” and symbol | indicates “in function of the random effect”; *npy* = neuropeptid y, *lepr* = leptin receptor, *grl* = ghrelin, *srifr* = somatostatin receptor, *gh* = growth hormone, *ghr-1* = growth hormone receptor 1, *igf-1* = insulin-like growth factor 1, *igf-1r* = insulin-like growth factor 1 receptor, *mhc* = myosin heavy chain, *myog* = myogenin.

Tissue	Gene	GLMM	Estimate Line	SE Line	P-value Line	P-value Family	P-value Length	P-value Condition
Brain	<i>npy</i>	<i>npy</i> _brain ~ 1	0.14	0.21	0.50	0.23	0.16	0.61
	<i>lepr</i>	<i>lepr</i> _brain ~ (1 Family)	0.21	0.29	0.43	0.01	0.12	0.92
Pituitary	<i>grl</i>	<i>grl</i> _pituitary ~ 1	0.07	0.54	0.88	1	0.37	0.34
	<i>srifr</i>	<i>srifr</i> _pituitary ~ 1	0.17	0.60	0.78	1	0.46	0.42
	<i>gh</i>	<i>gh</i> _pituitary ~ 1	0.03	0.28	0.90	0.17	0.32	0.24
	<i>ghr-1</i>	<i>ghr</i> _pituitary ~ 1	0.31	0.36	0.40	1	0.37	0.73
	<i>igf-1r</i>	<i>igf1-r</i> _pituitary ~ Length	-0.09	0.37	0.79	1	0.03	0.30
Liver	<i>ghr-1</i>	<i>ghr</i> _liver ~ Condition + Line	0.54	0.15	<0.01	1	0.08	0.02
	<i>igf-1</i>	<i>igf-1</i> _liver ~ Length + Line	0.68	0.18	<0.01	0.35	<0.01	0.07
Muscle	<i>ghr-1</i>	<i>gh-1r</i> _muscle ~ Length	-0.01	0.21	0.92	0.38	0.01	0.70
	<i>igf-1r</i>	<i>igf-1r</i> _muscle ~ Line	0.44	0.20	0.03	1	0.56	0.77
	<i>mhc</i>	<i>mhc</i> _muscle ~ 1	-0.04	0.21	0.85	1	0.49	0.17
	<i>myog</i>	<i>myog</i> _muscle ~ (1 Family)	-0.003	0.24	0.99	0.03	0.30	0.91

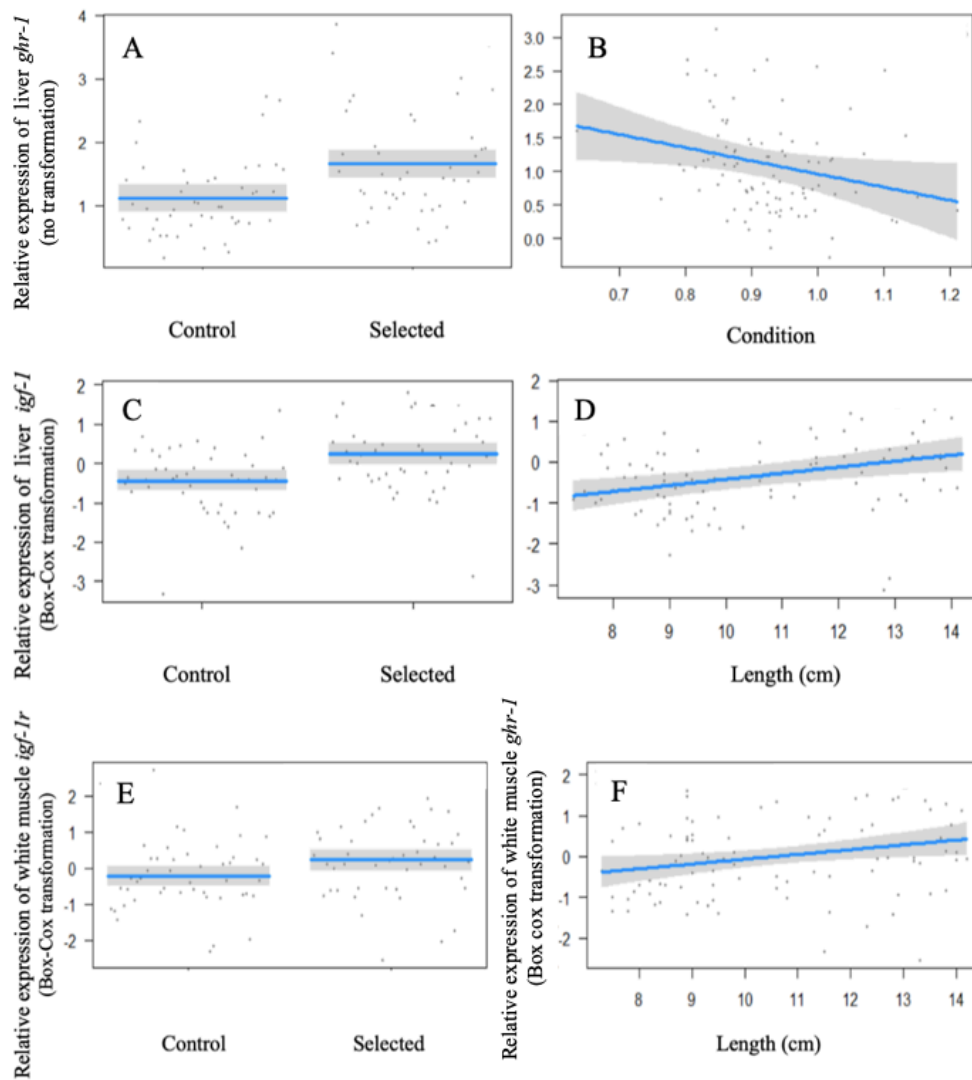


Figure 8. Line effects on the relative gene expressions in 1+ *Salvelinus fontinalis*. A: liver *ghr-1* from control and selected lines (data were not transformed). B: liver *ghr* correlated with condition from control and selection lines combined (data were not transformed). C: liver *igf-1* from control and selected lines (transformed data). D: liver *igf-1* correlated with length (cm) from control and selection lines combined (transformed data). E: muscle *igf-1r* from control and selected lines (transformed data). F: muscle *ghr-1* correlated with length (cm) from control and selection lines combined (transformed data). Blue lines represent means and shaded areas SD.

We found a significant family effect in *myog* gene expression (Table 6), but the complementary ANOVA analysis did not show significant differences among families with low and high performance ($F = 2.8$, $p = 0.09$). Relative expressions of *mhc*, *myog*, and *igf-1r* were not correlated with length (Table 6), but *ghr-1* expression was significantly positively correlated with length (Table 6; Figure 8F). None of the genes quantified in white muscle (*mhc*, *ghr-1*, *myog*, *igf-1r*) were correlated to condition (Table 6).

Phenotypes within families

For both lines, brain *npv* and *lepr* gene expressions were higher in slow-growing individuals than in fast-growing individuals from both low and high performing families (respectively $F_{(1,91)} = 5.26$; $p = 0.02$; $F_{(1,91)} = 6.70$; $p < 0.001$) (Figure 9A and 9B).

In liver, the relative expression of *ghr-1* showed no line \times family interactions ($F_{(1,91)} = 0.20$; $p = 0.64$), but it differed according to both family and individual performances. The *ghr-1* expression was higher in fast-growing juveniles from high-performance families ($F_{(2,91)} = 24.31$; $p < 0.001$) but no difference in low-performance families was observed ($F_{(2,91)} = 1.37$; $p = 0.24$) (Figure 9C).

The same nested effect was observed for liver *igf-1*, with no line \times family interactions ($F_{(1, 91)} = 0.87$; $p = 0.35$), a higher expression in the fast-growing juveniles in high-performance families ($F_{(2,91)} = 15.75$; $p < 0.001$), and no differences in low-performance families ($F_{(2,91)} = 2.17$; $p = 0.14$) (Figure 9D).

In muscle, *ghr-1* expression showed no line \times family interactions ($F_{(1,91)} = 0.33$; $p = 0.56$). A nested effect was observed with higher expression in the fast-growing juveniles from families with both low and high performance ($F_{(1,91)} = 4.23$; $p = 0.01$) (Figure 9E). No nested effect or interactions were observed in the relative expression of *igf-1r* ($F_{(1,91)} = 2.6$; $p = 0.07$), *mhc* ($F_{(1,91)} = 2.42$; $p = 0.09$), or *myog* ($F_{(1,91)} = 0.01$; $p = 0.98$).

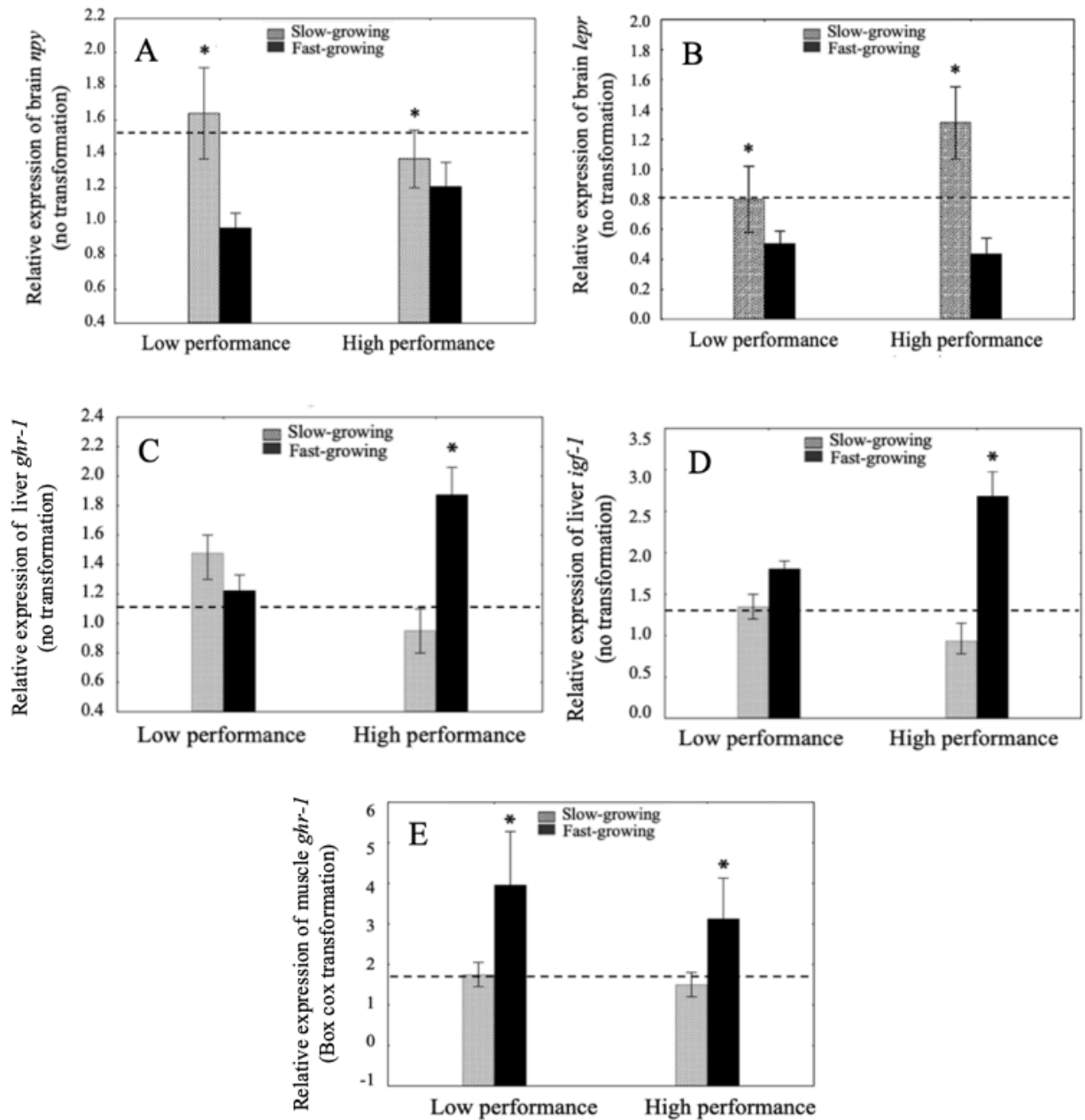


Figure 9. Relative gene expressions in 1+ *Salvelinus fontinalis* based on phenotype. A: brain *npv*; B: brain *lepr*; C: liver *ghr-1*; D: liver *igf-1*; E: muscle *ghr-1*. Data are presented as mean \pm SD. Asterisks indicate statistical differences ($p < 0.05$). Dashed lines represent the relative expression of the calibrator group CLS (Control line + Low performance + Slow-growing).

1.6. DISCUSSION

In this study, we aimed to test the hypothesis that selection enhanced the differential expression of genes involved in the GH/IGF-1 axis and in the appetite control as well as in muscle growth between slow- and fast-growing phenotypes and family performance. As expected, fish from the selected line were heavier and larger than those from the control line. However, we had to reject our main hypothesis that selection enhanced differential expressions of all our target genes involved in the GH/IGF-1 axis between slow- and fast-growing phenotypes. Indeed, growth performance in the selected line was associated with a higher relative expression of liver *igf-1* and muscle *igf1-r*, but not with those genes controlling appetite or muscle growth. However, some genes related to appetite control or muscle growth were linked to family performance and individual phenotypes, raising interesting questions about factors underlying non-selection-based phenotypic variations.

1.6.1 Selection-based effects on gene expression

Our results showed an upregulation of the *gh/igf-1* axis, starting with pituitary *igf-1r* and followed by liver *ghr-1*, liver *igf-1*, muscle *ghr-1*, and muscle *igf-1r* in the selected line, clearly indicating an effect of selection on this axis (Figure 10). The only gene on this axis that we looked at that was not upregulated in the selected line was pituitary *gh*. This might be explained by the limited statistical power for the analysis of pituitary gene expression considering that samples were pooled in the analysis. Yet, we consider this unlikely because differences in pituitary *igf-1r* could have been detected.

In other fast-growing salmonids that had followed a simple selection process based only on mass, liver *igf-1* and muscle *igf-1r* upregulation combined with a positive growth correlation is well known (Fleming *et al.*, 2002; Devlin *et al.*, 2009; Tymchuk *et al.*, 2009). It appears that selection based on growth and the absence of early sexual maturation in brook charr had also enhanced weight gain via upregulation of the *gh/igf-1* axis. Here, it is also noteworthy that the upregulation of liver *ghr-1* promotes the synthesis of *igf-1* in the liver.

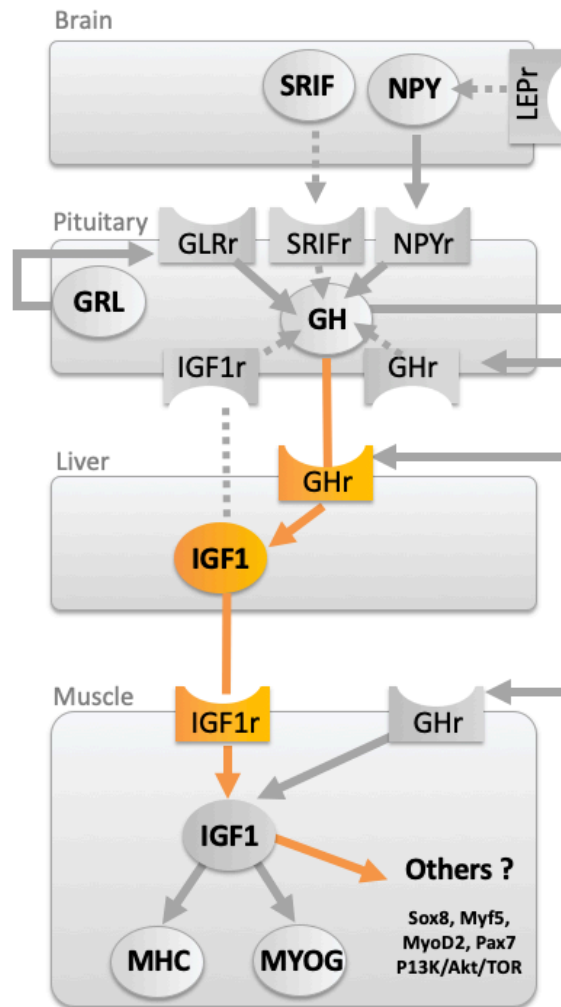


Figure 10. Endocrine growth regulation pathway of 1+ *Salvelinus fontinalis* in the selected line. This schema represents gene expression, not protein activity. Genes presented in orange indicate mRNA upregulation. Solid arrows indicate stimulation and dashed arrows represent inhibitory actions. *npy* = neuropeptid y, *lepr* = leptin receptor, *grl* = ghrelin, *srifr* = somatostatin receptor, *gh* = growth hormone, *ghr* = growth hormone receptor, *igf-1* = insulin like growth factor 1, *igf-1r* = insulin like growth factor 1 receptor, *mhc* = myosin heavy chain, *myog* = myogenin.

Indeed, mRNA levels of *igf-1*, *igf-1r*, and *gh* were already identified as genes of interest in promoting growth in the same strain of *S. fontinalis* (Sauvage *et al.*, 2012). Such upregulation was also shown to enhance lipid catabolism to obtain energy for growth in Atlantic salmon *Salmo salar* (Hevrøy *et al.*, 2015), which could explain the improved condition factor in the selected line. Even though the selection process did not modify the expression of pituitary *srifr*, this does not mean that a reduction in the production of SRIF, an inhibitor of growth hormone synthesis, could not be present. It should be noted that the effects of SRIF on *gh* expression are limited and conflicting (Wang *et al.*, 2016).

We showed that 1+ *S. fontinalis* juveniles reared under the same conditions, including temperature and food rations, displayed a differential modulation of the *gh/igf-1* axis that may have been enhanced by the selection process itself and not modulated by the influence of rearing variables such as stress (Meier *et al.*, 2009; Nakano *et al.*, 2013), feeding or fasting (Chauvigné *et al.*, 2003; Fukada *et al.*, 2004; Norbeck *et al.*, 2007; Bower *et al.*, 2008; Walock *et al.*, 2012), diet composition (Gomez-Requeni *et al.*, 2005; Hack *et al.*, 2018), or temperature (Hevrøy *et al.*, 2013), as previously documented in other salmonids.

Concerning appetite control (*npv* in particular), we found no differences in relative gene expression between the two lines, as we expected. Yet, it has previously been reported that selection had an impact on food intake in Atlantic salmon (*Salmo salar*), thus promoting faster growth and also improving the efficient utilization of proteins and energy (Gjedrem and Baranski, 2009). Again, we did not find any differences in the relative expression of muscle *mhc* and *myog* between lines. However, the absence of gene expression may not necessarily mean an absence of protein activity. It should also be pointed out that these two genes are only involved in the final stages of myocyte development (differentiation and maturation) (Evans *et al.*, 2014). Differences could have been present in the expression of muscle genes involved in the first stage of activation, such as nuclear antigen in proliferating cells (*pcna*) or in cell proliferation with the expression of different transcription factors (Figure 9), such as *Sox8*, *Myf5*, *MyoD2*, and *Pax7* (Vélez *et al.*, 2017), which activate intracellular transduction cascades via *igf-1* receptors (Dupont and LeRoith, 2001; Hack *et al.*, 2018).

1.6.2 Gene expression related to family performance

Contrary to what we observed between selected and control lines, family performance was related to the expressions of both *lepr* and *myog* for both the selection and control lines. Relative *lepr* expression was upregulated in low performance families suggesting a suppression of food intake and an increased metabolism, resulting in increased energy expenditure and weight loss (Klok *et al.*, 2007; Volkoff, 2016; Blanco and Soengas, 2021). In contrast, high-performant families did not show any difference in *lepr* expression but an upregulation of muscle *ghr* that could enhance growth; which has been widely demonstrated in several teleosts (Picha *et al.*, 2008; Hevrøy *et al.*, 2013, 2015; Vélez *et al.*, 2017).

1.6.3 Phenotypic variations

In slow-growing juveniles, differences in appetite regulation may be increased since upregulation of *npy* was also found with upregulation of *lepr* (Figure 11). However, more information is needed to fully understand the role of *lepr* in appetite regulation and in phenotype determination. Here, we found no indication of differences related to muscle growth regulation. In further studies, it would be relevant to look for differences in PI3/Akt/TOR pathway (the central mediator in the nutrient sensing protein pathway and precursor of many myogenic factors), which is only activated by feeding. Upregulation of this pathway was recently reported in fast-growing rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Cleveland *et al.*, 2020). Modifications in the trajectory of growth antagonist genes (e.g., precursors to the alpha subunits of Meprin A) (Valente *et al.*, 2013; Evans *et al.*, 2014), which were strongly expressed in the Laval control line in brook charr (Sauvage *et al.*, 2010), should also be looked at.

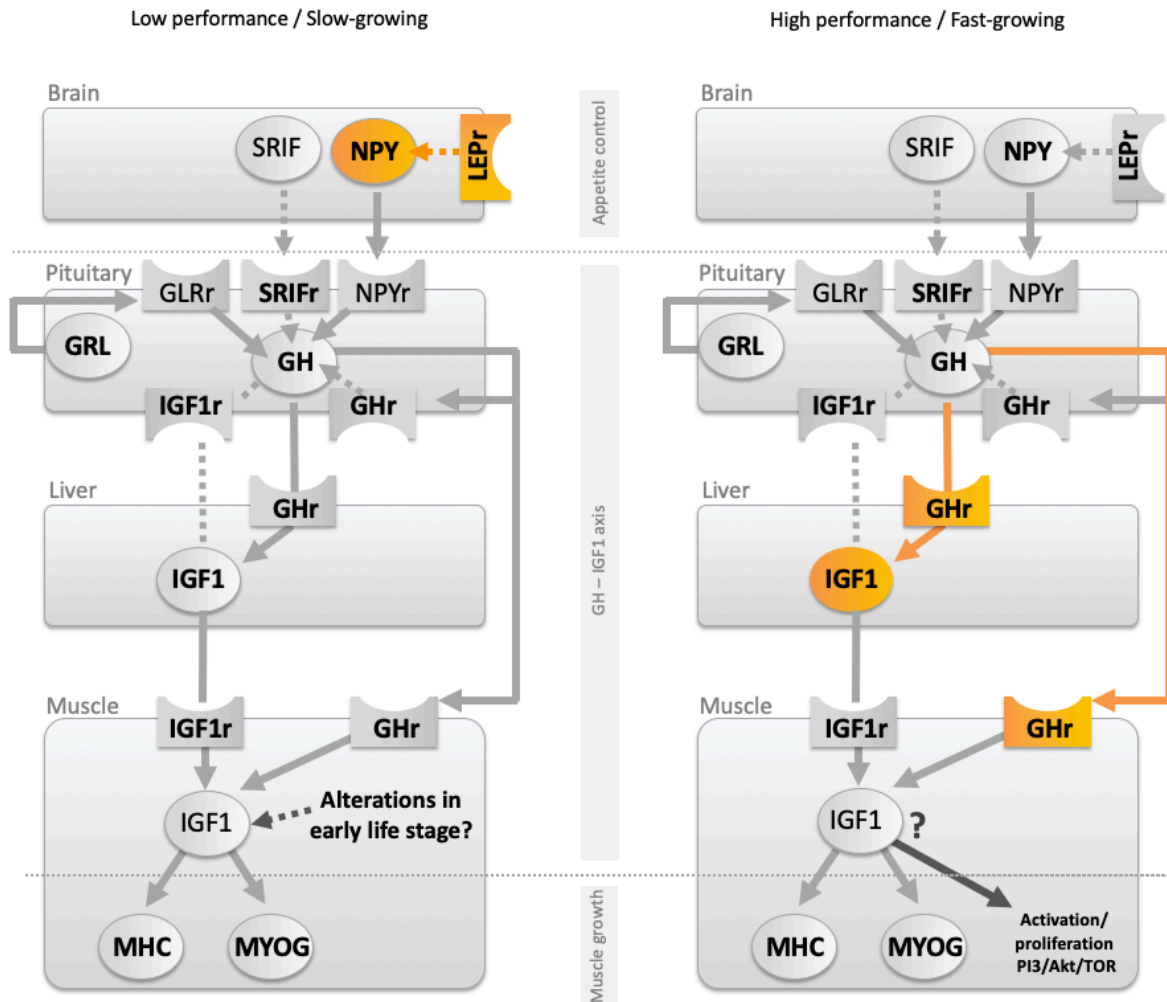


Figure 11. Endocrine growth regulation pathway of 1+ *Salvelinus fontinalis* from (left) low-performance families / slow-growing phenotype and (right) high-performance families / fast-growing phenotype. This schema represents gene expression, not protein activity. Genes presented in orange indicate mRNA upregulation. Solid arrows indicate stimulation and dashed arrows represent inhibitory actions. *npy* = neuropeptid y; *lepr* = leptin receptor; *grl* = ghrelin; *srifr* = somatostatin receptor; *gh* = growth hormone; *ghr* = growth hormone receptor; *igf-1* = insulin-like growth factor 1; *igf-1r* = insulin-like growth factor 1 receptor; *mhc* = myosin heavy chain; *myog* = myogenin.

1.6.4 Impact of the selection process on general growth across generations

In the first generations following the initiation of the selective breeding programs with wild breeders brought in captivity, Bastien *et al.* (2011) found that mean weight in the selected line increased by 23.1% after the first generation, by 32.1% after the second, and by 4% after the third. In this study, the combined selection showed that fish from the fifth generation of the selected line show a weight gain of 37.2% compared to those from the control line. In other salmonids, it is known that genetic improvements produce permanent gains (Gjedrem and Baranski, 2009). Our results are consistent with previous results such as Kause *et al.* (2005) who showed that combined selection improved *O. mykiss* growth by 7% per generation over two generations, and Gjerde and Korsvoll (1999) reported that Atlantic salmon *S. salar* after six generations showed improvements in growth rate of 83.9% overall—14% per generation—and a 12.5% reduction in the frequency of early sexual maturity.

Surprisingly, the condition factor in brook charr juveniles was lower in the selected line than in the control line due to variable gains in weight and length in the selected line. This could be explained by different regulations in the mechanisms related to energy reserves, as has been mentioned for *igf-1* and lipid catabolism. A strongly significant positive correlation between condition factor and total lipid content in Atlantic salmon *S. salar* suggests that condition factor can be used to indicate the state of energy reserves rather than as an indicator of growth (Herbinger and Friars, 1991; Sutton *et al.*, 2000).

1.7. CONCLUSIONS

Selection for the absence of early maturation combined with selection for high growth rate resulted in an upregulation of the *gh/igf-1* axis with no effect on the expression of genes related to appetite control or muscle growth. In contrast, phenotype differences in both the selected and control lines within families resulted in different expressions of genes related to appetite regulation. Slow-growing fish were characterized by an upregulation of brain *lepr* and a downregulation of the *gh/igf-1* axis. Overall then, our results show that *lepr* could be

used as a physiological indicator of growth related to phenotypic variation and family performance. Liver *igf-1*, as well as muscle *ghr* and *igf-1r* gene expressions could be considered as indicators of good growth among brook charr lines. The role of the receptors, which can only be studied with the transcriptomic approach, should be included in further studies because of their importance in the growth regulation pathway. Future research is needed to investigate which genes involved in muscle growth could be stimulated through *gh/igf-1* axis upregulation. By identifying the molecular mechanisms by which GH/IGF-1 signaling is modulated at the endocrine level (paracrine and autocrine), we should be able to better understand growth patterns that optimize growth strategies in commercial fish production. Finally, large weight and length variations still exist in the selected line, indicating that the full genetic selection potential had not been reached after five generations.

1.8. ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to all colleagues who provided technical and scientific assistance in the laboratory. Special thanks to Renée Gagné (Institut des sciences de la mer de Rimouski) who contributed to laboratory training; Geneviève Parent, Éric Parent and Grégoire Cortial (Fisheries and Oceans Canada), who helped with sequencing. This research was supported by the Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et en Génie du Canada (CRSNG, subvention à la découverte N° RGPIN-2019-05739) and by the *Ressources Aquatiques Québec* research network.

CHAPITRE 2

UTILISATION DE L'EXPRESSION GÉNIQUE POUR DÉTERMINER LES CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES LES PLUS PROPICES À LA CROISSANCE ET AU MÉTABOLISME DES JUVÉNILES DE SÉBASTES (*Sebastes mentella*) DANS L'ESTUAIRE ET LE GOLFE DU SAINT-LAURENT

2.1 RÉSUMÉ

On estime que dans les années à venir le sébaste atlantique *Sebastes mentella* deviendra la principale espèce soutenant l'industrie des pêches commerciales de poissons de fond dans l'estuaire et le golfe du Saint-Laurent (EGSL). En 2011, 2012 et 2013, trois fortes cohortes ont participé au recrutement pour ce stock ; les abondances en 2018 étaient 80 fois plus élevées que celles de la période 1993-2012. L'objectif principal de ce travail était d'approfondir notre connaissance sur la régulation de la croissance et du métabolisme chez les juvéniles de cette espèce afin d'identifier des indicateurs moléculaires pour ces fonctions et de déterminer comment ils sont influencés par les conditions environnementales naturelles. La masse des poissons et la température de l'eau ont expliqué 11 % de la variation des niveaux relatifs d'ARNm des gènes ciblés dans le foie et le muscle entre les sept sites de l'EGSL où des sébastes ont été capturés. L'expression relative du facteur de croissance de type insulinique (*igf-1*) dans le foie et de la lactate déshydrogénase (*ldh-a*) dans le muscle blanc était positivement corrélée à la masse, tandis que des corrélations négatives ont été observées pour l'expression relative de la myosine à chaîne lourde (*myo*) dans le muscle, de la citrate synthase (*cs*) dans le cœur et de la pyruvate kinase (*pk*) dans muscle blanc. L'expression relative de la cytochrome c oxydase sous-unité 1 (*cox-1*) dans le cœur et du récepteur à l'IGF-1 (*igf-1ra*) était négativement corrélée à la température. Les sébastes issus de l'estuaire avaient une masse inférieure à ceux capturés aux autres sites. Étant donné la

corrélation positive entre la masse des sébastes et la température, cette étude suggère un avantage écologique pour cette espèce dans un contexte de réchauffement climatique.

Ce deuxième article, intitulé « *Using gene expression to identify the most suitable environmental conditions for juvenile redfish (*Sebastes mentella*) growth and metabolism in the Estuary and the Gulf of St. Lawrence* », présente les résultats du troisième objectif de cette thèse doctorale et fut corédigé par moi-même ainsi que par Céline Audet, Marie Vagner et Caroline Senay. Il fut accepté pour publication dans la revue *ICES Journal of Marine Sciences* et est actuellement en processus de révision. En tant que premier auteur, ma contribution à ce travail fut l'essentiel de la recherche sur l'état de l'art, la mise au point de la méthode, les missions en mer, les analyses de laboratoire et des résultats et la rédaction de l'article. Marie Vagner, second auteur, a contribué à la planification, l'analyse des résultats et la révision de l'article. Caroline Senay, troisième auteure, a contribué à l'analyse des résultats et la révision de l'article. Céline Audet, quatrième auteur a fourni l'idée originale et a contribué aux analyses de laboratoire et des résultats, ainsi qu'à la rédaction de l'article.

Une version abrégée de cet article a été présentée à la *Réunion annuelle du RAQ* (Ressources Aquatiques Québec) à Québec à l'automne 2018, à la conférence *Larval Fish Conference* à Palma de Majorca (Espagne) au printemps 2019, au *Congrès annuel de la Société canadienne de zoologie* (édition virtuelle) à l'hiver 2021, ainsi qu'à la *Réunion annuelle du RAQ* à Québec à l'automne 2021.

Using gene expression to identify the most suitable environmental conditions for juvenile redfish (*Sebastes mentella*) growth and metabolism in the Estuary and the Gulf of St. Lawrence

Martínez-Silva Maria Angelica¹, Vagner Marie², Senay Caroline³, Audet Céline¹

¹Institut des sciences de la mer de Rimouski, Université du Québec à Rimouski, Rimouski, QC, Canada

²Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin, UMR 6539 (CNRS/Univ Brest/IRD/Ifremer), Plouzané, France

³Institut Maurice-Lamontagne, Pêches et Océans Canada, Mont-Joli, QC, Canada

2.2 ABSTRACT

Deepwater redfish *Sebastes mentella* will be among the most important resource-sustaining commercial bottom-fish fisheries in the years to come in the Estuary and Gulf of St. Lawrence (EGSL). In 2011, 2012, and 2013, three strong cohorts were recruited to the stock; their abundance in 2018 was 80 times higher than that of the 1993–2012 period. The main goal of this work was to deepen our knowledge of their growth regulation and metabolism in order to identify molecular indicators and determine how they are influenced by natural environmental conditions. Fish weight and water temperature explained 11% of the variation in relative mRNA levels of specific gene targets in liver and muscle among seven sites where deepwater redfish were captured in the EGSL. The relative expression of liver insulin-like growth factor-1 (*igf-1*) and white muscle A-chain lactate dehydrogenase (*ldh-a*) correlate positively with weight, whereas heavy chain muscle myosin (*myo*), heart citrate synthase (*cs*), and white muscle pyruvate kinase (*pk*) correlate negatively. The relative expression of heart cytochrome c oxidase subunit 1 (*cox-1*) and white muscle insulin-like growth factor-1 receptor isoform a (*igf-1ra*) correlate negatively with temperature.

Deepwater redfish from the estuary were smaller than those caught at other sites. Since the growth potential of deepwater redfish was strongly correlated with temperature (being enhanced by higher temperatures), this study suggests an ecological advantage for this species in a climate-warming context.

Keywords: Redfish, Growth, Metabolism, Transcriptomics, Temperature.

2.3 INTRODUCTION

The redfish fishery in the Estuary and Gulf of St. Lawrence (EGSL) has historically targeted two species, the Acadian redfish (*Sebastes fasciatus*) and the deepwater redfish (*Sebastes mentella*). The two species look very similar but can be distinguished genetically and to a lesser extent morphologically (DFO, 2018a). In 2011, 2012, and 2013, three strong cohorts recruited to the stock. Genetic analyses have indicated that these cohorts were dominated by deepwater redfish, and all the deepwater redfish caught for this study belong to a unique ecotype or genetic group known as “*S. mentella* gulf,” which is the only one present in the EGSL (DFO, 2018b; Benestan *et al.*, 2021). Research survey data show that the abundance of deepwater redfish juveniles in 2018 was 80 times higher than their average abundance for the 1993-2012 period (DFO, 2018a). Indeed, Fisheries and Oceans Canada (DFO) data suggest that redfish (both Acadian and deepwater redfish) should become the most important resource-sustaining commercial bottom-fish fisheries in the years to come in the EGSL (DFO, 2018a). Most of the recent information for deepwater redfish in the EGSL comes from summer trawl surveys, and there is little information for other seasons on diet, distribution, and movements (Senay *et al.*, 2021). Deepwater redfish is a benthic fish remaining on or near the sea bottom during the daytime and rising higher in the water column at night, presumably to feed (Scott and Scott, 1988). The group of prey contributing the most to the deepwater redfish diet is zooplankton (32%), followed by shrimp (29%) and other invertebrates (17%) (DFO, 2018a; Senay *et al.*, 2021).

Understanding deepwater redbfish stock dynamics requires knowledge on the physiology of the species, including growth and metabolism. However, studying the physiology of deepwater redbfish presents specific challenges because of the low survival rate of fish caught in a deep environment (Saborido-Rey *et al.*, 2004). Maintaining deepwater redbfish in a rearing environment that mimics their natural environmental conditions is almost impossible because of the depth and pressure encountered in nature. Transcriptomic studies of the genes involved in growth and metabolic regulation may offer new investigative tools that can overcome sampling and rearing challenges and allow us to evaluate physiological responses in their original environment.

In fishes, growth is controlled at the endocrine level, especially by the growth hormone (GH) / insulin-like growth factor-1 (IGF-1) axis (Björnsson, 1997; Wood *et al.*, 2005; Duan *et al.*, 2010; Vélez *et al.*, 2017). This axis is modulated by both biotic and abiotic conditions, such as the nutritional or thermal environment (Beckman, 2011; Reindl and Sheridan, 2012; Breves *et al.*, 2016). GH is synthesized by the pituitary gland and regulates many functions, including somatic growth, energy metabolism, reproduction, digestion, osmoregulation, and immune response (Reinecke *et al.*, 2005; Kawaguchi *et al.*, 2013). It also stimulates the production of IGF-1 in the liver (Meier *et al.*, 2009; Volkoff *et al.*, 2010; Bergan-Roller and Sheridan, 2018; Vélez *et al.*, 2018). Its main effects on growth are thought to be via regulation of IGF-1 release (Beckman *et al.*, 2004; Reinecke *et al.*, 2005; Picha *et al.*, 2006; Beckman, 2011; Kawaguchi *et al.*, 2013). It has been shown that measures of IGF-1 (plasma concentration and liver mRNA levels) are also strongly correlated with specific growth rate in several teleost species and could be used as a proxy for growth (reviewed by Beckman, 2011). Indeed, plasma IGF-1 has a significant positive correlation with liver *igf-1* mRNA and specific growth rate in species closely related to deepwater redbfish, such as olive rockfish *Sebastes serranoides* (Hack *et al.*, 2018) and copper rockfish *Sebastes caurinus* (Hack *et al.*, 2019) as well as in other fish species such as rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Gabillard *et al.*, 2003) and chinook salmon *O. tshawytscha* (Pierce *et al.*, 2005). Plasma IGF-1 also has a significant positive correlation with muscle *igf-1* mRNA in the hybrid

striped bass *Morone chrysops* × *Morone saxatilis* (Picha *et al.*, 2008). In cabezon *Scorpaenichthys marmoratus*, another species closely related to deepwater redfish, Strobel *et al.* (2020) found not only a significant positive correlation between plasma IGF-1 and specific growth rate, but also evidence that fasting affected *igf-1* mRNA in liver but not in white muscle, indicating a negative correlation between muscle *igf1-r* mRNA and growth rate/food intake. In muscle tissue, IGF-1 has a role in the regulation of metabolism, facilitating the uptake of substrates that contribute to muscle growth and may promote the expression of other important genes involved in the myogenesis process (fiber regulation, activation of satellite cells, proliferation, differentiation, and maturation) (e.g., Duan *et al.*, 2010; Vélez *et al.*, 2016). Specifically, the myosin (*myo*) gene is involved in the two final stages of the myogenesis process, i.e., differentiation and maturation (Vélez *et al.*, 2017).

Another important aspect to consider when studying growth is metabolism, since somatic growth is the result of the energetic balance between assimilated and consumed energy (Saborido-Rey and Kjesbu, 2005). In fishes, the activities of muscle pyruvate kinase (PK) and lactate dehydrogenase (LDH), indicators of anaerobic glycolysis, have been demonstrated to be correlated with growth (Pelletier *et al.*, 1993a). In heart and red muscle, the activities of citrate synthase (CS) and cytochrome c oxidase (COX) have been shown to be good indicators of the Krebs cycle and mitochondrial activity (aerobic metabolism) (*Salvelinus alpinus*: Le François *et al.*, 2005; *Anarhichas minor*: Desrosiers *et al.*, 2008; *Paralabrax nebulifer*: Yang and Somero, 1996; different Antarctic fish species: Torres and Somero, 1988). LDH and PK activities have been shown to increase in spotted wolffish *Anarhichas minor* during development (Desrosiers *et al.*, 2008) and were positively correlated with growth rate in Atlantic cod *Gadus morhua* (Pelletier *et al.*, 1993b) and body size in walking catfish *Clarias betranthus* (Tripathi and Verma, 2004). Davies and Moyes (2007) showed that the mass-specific activity of CS scaled negatively with body size, the glycolytic enzyme PK showed positive scaling, and the ratio of mass-specific PK to CS enzyme activity increased with body size, whereas the ratio of *pk* to *cs* mRNA transcripts was unaffected in largemouth bass *Micropterus salmoides* and smallmouth bass *Micropterus*

dolomieu, suggesting that the enzyme relationships were not due simply to transcriptional regulation of both genes.

The main goal of this work was to deepen our knowledge of growth regulation (liver *igf-1*, white muscle *igf-1ra* and *myo*) and metabolism (heart *cox-1* and *cs*, white muscle *pk* and *ldh-a*) in deepwater redbfish. We hypothesized that the expression of genes coding for hormones regulating growth (in liver and muscle) and for enzymes regulating metabolism (in liver, muscle, and heart) could be indicators of growth characteristics at different sampling sites and thus be indicative of habitat suitability for juveniles. We aimed to explore how characteristics of the capture sites could influence gene expression. Deepwater redbfish were captured in various zones of the EGSL that differ in terms of dissolved oxygen, temperature, salinity, depth, and deepwater redbfish biomass. This approach allowed us to obtain insight on which habitats would be the most suitable for deepwater redbfish growth and condition factor. This information is valuable in a management context.

2.4 METHODS

2.4.1 Redfish sampling

Redfish were captured alive during the August 2018 scientific campaign carried out at seven sites in the EGSL (AG: Anticosti–Gaspé, ES: Estuary, GA: Gyre d'Anticosti, LC: Laurentian Channel, EC: Esquiman Channel, AC: Anticosti Channel, CSt: Cabot Strait; Figure 17) by DFO aboard the CCGS *Teleost* with a Campelen 1800 trawl.

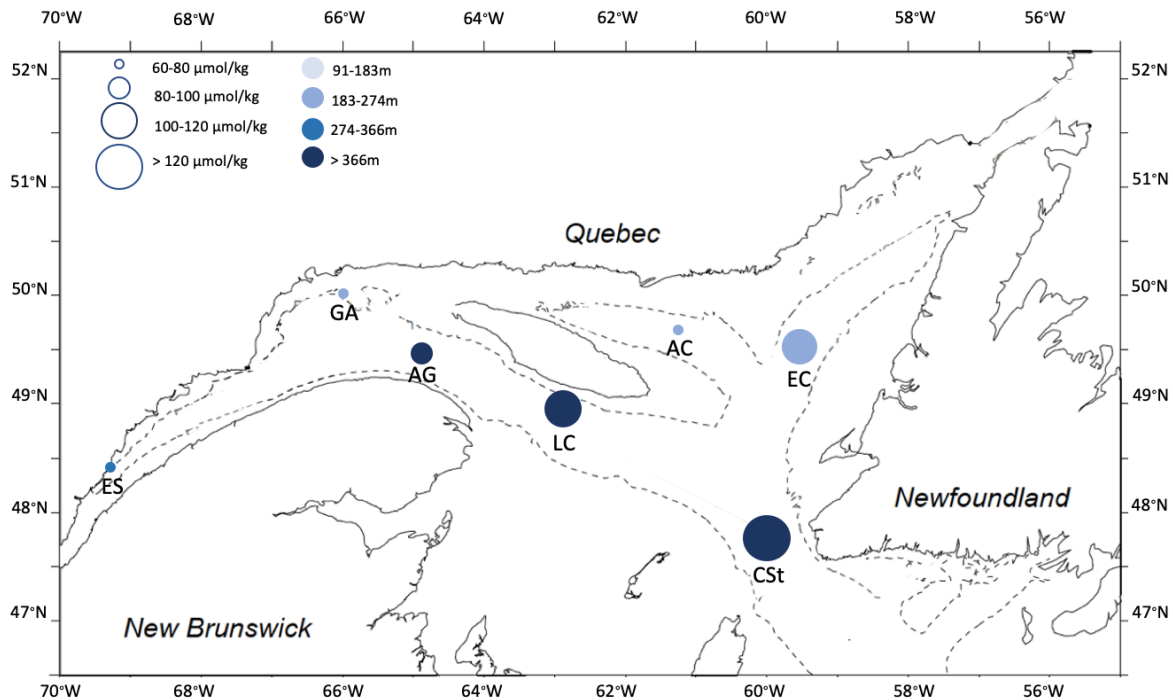


Figure 12. Deepwater redfish sampling sites in the Estuary and Gulf of St Lawrence. Circle sizes indicate oxygen saturation ($\mu\text{mol/kg}$) and colours indicate depth. AG: Anticosti–Gaspé, ES: Estuary, GA: Gyre d'Anticosti, LC: Laurentian Channel, EC: Esquiman Channel, AC: Anticosti Channel, CSt: Cabot Strait.

Data from 670 redfish individuals (random subsamples taken from the entire catch) were considered for this study. The tows were planned to last 15 minutes at a speed of ~ 3 knots. Bottom measurements of dissolved oxygen, temperature, and salinity along with depth data and standardized redfish biomass (weight of all individuals in a catch standardized for tow duration) were collected at sampling stations (AG, LC, EC, and AC: one sampling station; GA and CSt: two sampling stations; ES: three sampling stations). Once fish were caught, they were put into baskets to weigh the entire catch by station (hereafter called biomass). From these baskets, we randomly selected fish from among those that met the following three requirements: (1) the fish was alive, (2) fish length was between 20 and 23

cm, and (3) the fish had not regurgitated its stomach. We took tissue samples from the first 20 fish and the others were measured for the DFO survey. We did not have control over the number of stations per site: logistical decisions were based on the multiple research objectives of the survey. Salinity, temperature, and depth were measured using an SBE 19plus V2 SeaCAT CTD (Sea-Bird Scientific, Bellevue, WA, USA), and dissolved oxygen was measured using an Optode 4831 (Aanderaa, Bergen, Norway). Data are reported in Table 7.

Fork lengths were measured on all fish (Table 8). At each site, 20 deepwater redfish with lengths between 20 and 23 cm were sacrificed by severing the spinal cord and were immediately dissected on ice for tissue samplings. This size standardization ensured that immature individuals belonging to the same cohort (2011–2013; Brassard *et al.*, 2017) were used for the gene response evaluation (Table 9) and that the gene response was only related to growth and not gonad maturation. This decision was made based on information that was available when the project was planned. In the meantime, a study based on gonad histology that is currently in progress has indicated that most fish larger than 20 cm are undergoing maturation or are mature (C. Senay, unpublished results). However, we examined the gonads of all fish sampled for gene expression and found no visual evidence of developed gonads. Tissue samples from heart, liver, and a piece of epaxial muscle from just beneath the dorsal fin were immediately stored in RNAlater (Invitrogen, Waltham, MA, USA) at -20°C pending further analysis of relative gene expression (liver: *igf-1*; white muscle: *igf-1ra*, *myo*, *pk*, *ldh-a*; heart: *cox-1*, *cs*; Table 10). We were careful not to include the gallbladder to avoid RNAses. A piece of the pectoral fin was also removed from all individuals and stored in 100% ethanol for DNA-based species identification.

Table 7. Position, biomass (entire catch per site), number of fish measured, and bottom physicochemical parameters at each sampling site in the Estuary and Gulf of St. Lawrence. AG, LC, EC, and AC: one sampling station; GA and CSt: two sampling stations; ES: three sampling stations.

Site	Long (°W)	Lat (°N)	Biomass (kg)	Measured fish	Oxygen ($\mu\text{mol/kg}$)	Temp (°C)	Salinity	Depth (m)
Anticosti–Gaspé (AG)	64.669	49.357	272.46	51	88.61	6.27	34.76	384
Estuary (ES)	69.330	48.360	151.68	171	60.85 ± 3.48	5.67 ± 0.15	34.45 ± 0.06	306 ± 29.37
Gyre Anticosti (GA)	66.046	49.768	2310.34	61	75.16 ± 10.56	5.73 ± 0.52	34.47 ± 0.29	255 ± 86.97
Laurentian Channel (LC)	62.944	48.840	738.64	77	120.00	6.28	34.89	375
Esquiman Channel (EC)	59.419	49.421	3984.93	81	118.31	6.37	34.46	240
Anticosti Channel (AC)	61.356	49.514	2187.14	86	71.31	6.03	34.43	245
Cabot Strait (CSt)	60.042	47.786	357.68	145	158.51 ± 2.18	5.89 ± 0.03	34.95 ± 0.01	501 ± 8.49

Table 8. Number of deepwater redfish measured per site (total 670) with their mean (\pm SD) weight, length, and Fulton condition factor. For each column, different letters indicate significant differences among sites (ANOVA with Games-Howell post-hoc tests because data were heteroscedastic; $\alpha = 0.05$).

Site	Measured fish	Length (cm)	Weight (g)	Fulton
Anticosti–Gaspé (AG)	51	22.48 \pm 5.62 (b)	147.8 \pm 62.87 (c)	1.294 \pm 0.17 (b)
Estuary (ES)	171	15.59 \pm 4.83 (d)	55.6 \pm 41.87 (d)	1.071 \pm 0.19 (c)
Gyre d’Anticosti (GA)	61	19.34 \pm 6.53 (c)	134.2 \pm 116.13 (c)	1.228 \pm 0.25 (b)
Laurentian Channel (LC)	77	27.07 \pm 8.08 (a)	365.6 \pm 349.75 (ab)	1.271 \pm 0.16 (b)
Esquiman Channel (EC)	81	25.48 \pm 8.00 (a)	255.8 \pm 229.02 (b)	1.278 \pm 0.18 (b)
Anticosti Channel (AC)	86	19.2 \pm 6.22 (c)	137.4 \pm 124.65 (c)	1.217 \pm 0.22 (b)
Cabot Strait (CSt)	145	28.09 \pm 7.06 (a)	371.7 \pm 294.11 (a)	1.412 \pm 0.13 (a)

Table 9. Mean \pm (SD) weight, length and Fulton condition factor for the 10 redfish individuals per site used for genetic analysis. For each column, different letters indicate significant differences among sites (ANOVA; Tukey HSD multiple comparison tests when data were homoscedastic (weight) and Games-Howell tests when data were heteroscedastic (length, fulton; $\alpha = 0.05$).

Site	Length (cm)	Weight (g)	Fulton
Anticosti–Gaspé (AG)	22.45 \pm 1.2 (ab)	146.3 \pm 22.3 (b)	1.290 \pm 0.12 (bc)
Estuary (ES)	20.88 \pm 1.1 (b)	115.5 \pm 10.4 (c)	1.279 \pm 0.17 (bc)
Gyre d’Anticosti (GA)	22.39 \pm 0.6 (a)	150.6 \pm 12.2 (ab)	1.342 \pm 0.10 (bc)
Laurentian Channel (LC)	22.13 \pm 0.9 (ab)	130.8 \pm 16.8 (bc)	1.203 \pm 0.09 (c)
Esquiman Channel (EC)	22.05 \pm 0.5 (ab)	137.5 \pm 16 (bc)	1.280 \pm 0.11 (bc)
Anticosti Channel (AC)	22.1 \pm 0.8 (ab)	146.5 \pm 20.6 (b)	1.350 \pm 0.09 (b)
Cabot Strait (CSt)	22.51 \pm 0.6 (a)	174.1 \pm 22.5 (a)	1.521 \pm 0.13 (a)

Table 10. Information on partial sequences and probes obtained for *Sebastes mentella*. For each studied gene, we present the PCR amplicon size (number of base pairs [bp]), the designed qPCR primers and probes, and the % efficiency (this is presented as a slope; the ideal is -3.3 and the accepted range is -3.58 to -3.10). Abbreviations are as follows: *igf-1*: insulin like growth factor 1 (liver); *igf-1ra*: IGF-1 receptor (white muscle); *myo*: myosin heavy chain (white muscle); *pk*: pyruvate kinase (white muscle); *ldh-a*: lactate dehydrogenase (white muscle); *cox-1*: cytochrome oxidase (heart); *cs*: citrate synthase (heart); *ef-1a*: elongation factor 1 alpha; *18s*: 18s ribosomal; *b-actin*: beta actin.

Gene	Amplicon size (bp)	% Efficiency (slope)	qPCR primers and probes (5'-3')
<i>igf-1</i>	177	97.63 (-3.38)	F – GCTGAGGACGCACAGCAGTA R – CAAGAGTGCGATGTGCTGTATCT P – TGAGAGGGTGTGGCTAC
<i>igf-1ra</i>	113	100.08 (-3.32)	F – GCCTGTACACCTGAGGACATCA R – CCACCGAGTCCAGGTAGCA P – ATCCATGCGGATTGAG
<i>myo</i>	755	94.92 (-3.45)	F – TGGAGCTTACCTTGGCCAAA R – TCAGGTTCTTCACCTTGTTCTCAGT P – TGGAGAAGGAGAAACAT
<i>pk</i>	185	94.54 (-3.46)	F – CCTGCAGTTCGGTGTGGAT R – GCGGATGAAGGAGGCAAA

			P – ACGGAGTCGACATGGT
<i>ldh-a</i>	121	107.71 (-3.15)	F – GGGAGCAAGCCATACTTTTAGC R – GCAAGGTCAGGAATTGAATTTGA P – TCTGGCAAATCCT
<i>cox-1</i>	237	93.44 (-3.49)	F – TGAAAAGATTGTCAGGTCGACTGA R – CGCCCCTGGCTGGTAAT P – CTCCTGCGTGGGCTA
<i>cs</i>	229	99.68 (-3.33)	F – TCAGCGCCGCCATCA R – GGAGTATGCCCGTGCAAAA P – CTCTGAATAGCGAGAGCG
<i>ef-1a</i>	813	100.38 (-3.32)	F – CGGCCGACGGGTACAGT R – GCCCCTGCAGGACGTCTAC P – CCAATACCGCCAATTT
<i>18s</i>	842	99.00 (-3.35)	F – CTTTCGCTTTCGTCCGTCTT R – GTATTGTGCCGCTAGAGGTGAA P – CGCCGGTCCAAGAA
<i>b-actin</i>	507	101.99 (-3.28)	F – ACCATCGGCAATGAGAGGTT R – CGAGGAAGGATGGCTGGAA P – TTGCCAGAGGCC

2.4.2 Fish condition

The lengths and weights of all captured deepwater redfish were measured ($n = 670$). The Fulton condition factor (K) was estimated for each sampled fish using the following formula:

$$K = 100(W/L^3)$$

where W is the wet body weight in grams and L is the fork length in centimeters. For condition factor calculation, we assumed isometric growth since similarly sized individuals were used. Larger values (>1) signified that a fish was heavy (and potentially had greater energy and fat reserves) for a given size (Fulton, 1904; Nash *et al.*, 2006).

2.4.3 Genetic identification of individuals

DNA extraction – For each fish sampled for gene expression ($n = 140$), DNA was extracted from 20 mg of fin tissue (wet mass) using the DNeasy blood and tissue kit (Qiagen, Inc., Mississauga, ON, Canada). The final concentration was adjusted to 50 ng ml⁻¹ for genetic analysis.

Genetic analysis – Genetic analysis was conducted according to Valentin *et al.* (2014), with slight modifications, using the Qiagen multiplex PCR kit (Qiagen, Inc.). Four of the original 13 markers allowing species identification (Seb9, Seb25, Seb31, and Seb33) were used to discriminate species. Electrophoresis was conducted on an ABI 3130 genetic analyzer (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA) using 0.1 μ l of the GeneScan™ 1200 LIZ™ dye size standard (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) for each sample. The GeneMapper® Software v5.2 (Thermo Fisher Scientific) was used to perform data analysis/genotyping.

The R Package EasyAssign (<https://github.com/biodray/EasyAssign>) was used to assign samples to species. Genetic analysis indicated that 6% of the sampled fish

were *S. fasciatus* (captured at AG and GA), and species was undetermined in 23% of the fish. Of the 140 fish sampled, 95 individuals were identified as “*S. mentella* gulf” (the threshold used for the assignment was 95%); from these, we randomly selected 10 fish per sampling site—a total of 70—that were used for gene expression analyses (Table 9).

2.4.4 Gene expression

Extraction of total RNA – RNA was extracted from 30 mg of liver, heart, and epaxial muscle (wet mass) from 10 deepwater redfish per site (total of 70), using the RNeasy Plus Universal Mini Kit (liver; Qiagen, Inc.) or RNeasy Fibrous Tissue Kit (heart and muscle; Qiagen, Inc.) and diluted to a final concentration of 200 ng μL^{-1} RNA. RNA purity, quality, concentration, and absorbance ratio 260/280 were determined by SYBR Safe DNA Gel Stain 2% agarose gel electrophoresis (ChemiDoc XRS+ system, Biorad, CA, USA) and spectrophotometry (NanoVue Plus, GE Healthcare, Pittsburgh, PA, USA).

Reverse transcription – Reverse transcription of messenger RNA (mRNA) into complementary DNA (cDNA) was performed in duplicate using the Quantitect reverse transcription kit (Qiagen, Inc.). cDNA was then diluted to a final concentration of 200 ng μL^{-1} , separated into aliquots, and kept frozen at -20°C until further analysis. Integrity was verified and cDNA concentrations were measured using a NanoVue Plus spectrophotometer. The efficiency of reverse transcription was verified by quantitative polymerase chain reaction (qPCR) using serial dilutions of a representative pool of cDNA samples collected from different sampling sites and compared to the ideal slope of -3.3 .

PCR amplification, sequencing, and assembly of partial cDNAs – Since there were no available sequences for target and reference genes in deepwater redfish, primers were designed using sequences from closely related or other marine fish species (Annexe 1). PCRs were performed in 25 μL reaction volumes containing 12.5 μL of AmpliTaq Gold 360 (Applied Biosystems), 0.5 μL of 360 GC enhancer (Applied Biosystems), 2.5 μL of cDNA,

1.25 μL each of forward and reverse primers (20 mM), and 7 μL of nuclease-free H_2O . Reactions were amplified under a thermal profile at 95°C for 10 min, 40 cycles at 95°C for 30 s, 60°C for 30 s, and 72°C for 1 min and 20 s, followed by 7 min at 72°C. PCR products were then tested by gel electrophoresis on 2% agarose gels. The amplified PCR products were purified using the QIA quick PCR purification kit (Qiagen, Inc.) and forward and reverse sequenced using the BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems) with the ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). For each gene, the sequence obtained was compared with the sequence used for primer design using the BLAST® software (Altschul *et al.*, 1990). Sequence lengths and percentages of similarity to the reference sequences are presented in annexe 1.

Design of primers and probes – Deepwater redfish TaqMan primers and probes were designed using the Primer Express software version 3.0 (Applied Biosystems) for each reference and target gene (Table 10).

Real-time PCR analysis and gene quantification – Gene expression was quantified by qPCR performed in triplicate on deepwater redfish samples using a QuantStudio 3 Real Time PCR System (Applied Biosystems). Each reaction consisted of 2 μL of diluted cDNA, 5 μL of TaqMan Fast Advanced Mix (Applied Biosystems), 0.5 μL of Custom TaqMan Gene Expression Assays (Applied Biosystems), and 2.5 μL of sterile water, for a total volume of 10 μL . The thermal cycling of qPCR was done in two steps: (1) 2 min at 50°C for optimal AmpErase uracil-N-glycosylase activity followed by 20 s at 95°C to activate DNA polymerase, and (2) 45 denaturation cycles for 1 s at 95°C and annealing / extension for 20 s at 60°C. Cycle thresholds (C_T) were obtained with the QuantStudio Design Analysis software (ThermoFisher Connect).

The relative quantification of gene expression was calculated according to the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method of Livak and Schmittgen (2001), with C_T being a threshold cycle:

$$2^{-\Delta\Delta C_T} = 2^{-(\Delta C_{Te} - \Delta C_{Tc})}$$

where $C_{Te} = C_T$ of the target gene – C_T of the reference genes for sample x , and $C_{Tc} = C_T$ of the target gene – C_T of the reference genes for the calibrator (see below). In this study, the calibrator was deepwater redfish sampled from Cabot Strait (the deepest, saltiest, and most highly oxygenated site). The stability of reference gene expressions was verified with Expression Suite version 1.0, where the score was calculated according to Vandesompele *et al.* (2002). The score is a measure of the stability of genes in the qPCR analysis, which can vary according to the tissue—the lower the score, the more stable the expression. The reference genes used were 18S, β -actin, and EF1 α , and the best combination of scores was kept for each tissue. For accurate averaging of the reference genes, we used the geometric mean instead of the arithmetic mean because the former better controls for possible outlier values and abundance differences between the different genes (Vandesompele *et al.*, 2002). The efficiency of the qPCR was verified for each gene, and percent efficiency values are reported in Table 10.

2.4.5 Statistical analyses

Length, weight, Fulton condition factor, and qPCR data were compared using one-way ANOVA ($\alpha < 0.05$), with site as the explanatory variable. To assess ANOVA assumptions, data normality was verified using the Kolmogorov-Smirnov test and homoscedasticity was tested using the Levene test. If significant differences occurred, post-hoc HSD Tukey tests were used when homoscedasticity was verified and multiple-range Games-Howell tests were applied in cases of heteroscedasticity.

An exploratory principal component analysis was run to verify whether fish from each site differed according to gene expression data, but no clear pattern discriminating the sites emerged (see Annexe 1). Relationships were examined between the response variables (*igf-1*, *igf-1ra*, *myo*, *cox-1*, *cs*, *pk*, *ldh-a*) and the explanatory variables describing site-scale characteristics (dissolved oxygen, temperature, depth, and deepwater redfish biomass at the entire capture site) and individual-scale characteristics (length, weight, and Fulton condition factor of analyzed individuals) using the 70 deepwater redfish on which qPCR analyses had been done. To do so, a global canonical redundancy analysis (RDA: *rda* function in the R *vegan* package) was run with all explanatory variables, and model probability and adjusted coefficients of determination (adjusted R²) were calculated. The adjusted R² was quantified (*RsquareAdj* function in the R *vegan* package), and it accounts for the number of observations and number of degrees of freedom in the fitted model (Peres-Neto *et al.*, 2006; Legendre *et al.*, 2011).

Variation partitioning was conducted to determine the relative contribution of site-scale characteristics (dissolved oxygen, temperature, salinity, depth, and total biomass of captured deepwater redfish at the sampling site) and individual-scale characteristics (length, weight, and Fulton condition factor of the analyzed individuals) to explain gene expressions (*varpart* function in the R *vegan* package). This method requires multiple partial RDAs to quantify the variance explained exclusively and jointly by groups of variables.

A selection of variables contributing to the explained variation was achieved by using both forward and backward selection as well as a stopping criterion (*ordiR2step* function in the R *vegan* package; Blanchet *et al.*, 2008). This criterion limits overfitting by preventing selected variables included in the reduced model from explaining more variation than the full model developed with all explanatory variables. A triplot was produced with a type 1 scaling to illustrate distances among objects (i.e., individuals) and relationships with selected environmental variables based on the reduced model using only significant explanatory variables. In such a representation, the distance between objects are Euclidean distances (objects closer to each other have similar variable values), while the angles between the

vectors of response variables are meaningless. The angles between vectors of the response variables and explanatory variables reflect linear correlation.

2.5 RESULTS

2.5.1 Individual fish characteristics

The lengths, weights, and Fulton condition factors of 670 deepwater redfish were significantly different among the sites (length: $F = 65.62$, $p < 0.0001$; weight: $F = 42.80$, $p < 0.0001$; Fulton condition factor: $F = 46.67$, $p < 0.0001$) (Table 8). Deepwater redfish captured in LC, EC, and CSt were the longest, while those captured in ES were the shortest (on average of 42% shorter; Table 8). Fish from LC, EC, and CSt were also significantly heavier than those from ES (Table 8). Deepwater redfish from CSt had the highest Fulton condition factor (Table 11) while those captured at ES had the lowest (24% lower than CSt). Condition factors were intermediate in deepwater redfish captured at other sites. Weight, length, and condition factor followed same tendencies for the 10 fish per site that were sampled for genomic analysis (Table 9).

2.5.2 Genes involved in growth regulation

The relative expression of *igf-1* in liver was the lowest at ES, where it was 68% lower than at CSt or AG ($F = 3.97$, $p = 0.0019$; Figure 18A) and intermediate to all other sites. The relative expression of its receptor, *igf-Ira*, in white muscle was 476% higher in deepwater redfish captured at ES compared to those captured at AG, GA, and LC, with intermediate values at the other sites ($F = 4.60$, $p < 0.0001$; Figure 18B). The relative expression of white muscle *myo* was lowest in individuals captured at CSt ($F = 2.73$, $p = 0.0210$; Figure 18C) while it was significantly higher—by 189%—at AC, but no significant correlation was detected at ES or LC because interindividual variations were too high. *Myo* expression was intermediate at other sites.

Table 11. Number of deepwater redfish measured per site (total 670) with their mean (\pm SD) weight, length, and Fulton condition factor. For each column, different letters indicate significant differences among sites (ANOVA with Games-Howell post-hoc tests because data were heteroscedastic; $\alpha = 0.05$).

Site	Measured fish	Length (cm)	Weight (g)	Fulton
Anticosti–Gaspé (AG)	51	22.48 \pm 5.62 (b)	147.8 \pm 62.87 (c)	1.294 \pm 0.17 (b)
Estuary (ES)	171	15.59 \pm 4.83 (d)	55.6 \pm 41.87 (d)	1.071 \pm 0.19 (c)
Gyre d’Anticosti (GA)	61	19.34 \pm 6.53 (c)	134.2 \pm 116.13 (c)	1.228 \pm 0.25 (b)
Laurentian Channel (LC)	77	27.07 \pm 8.08 (a)	365.6 \pm 349.75 (ab)	1.271 \pm 0.16 (b)
Esquiman Channel (EC)	81	25.48 \pm 8.00 (a)	255.8 \pm 229.02 (b)	1.278 \pm 0.18 (b)
Anticosti Channel (AC)	86	19.2 \pm 6.22 (c)	137.4 \pm 124.65 (c)	1.217 \pm 0.22 (b)
Cabot Strait (CSt)	145	28.09 \pm 7.06 (a)	371.7 \pm 294.11 (a)	1.412 \pm 0.13 (a)

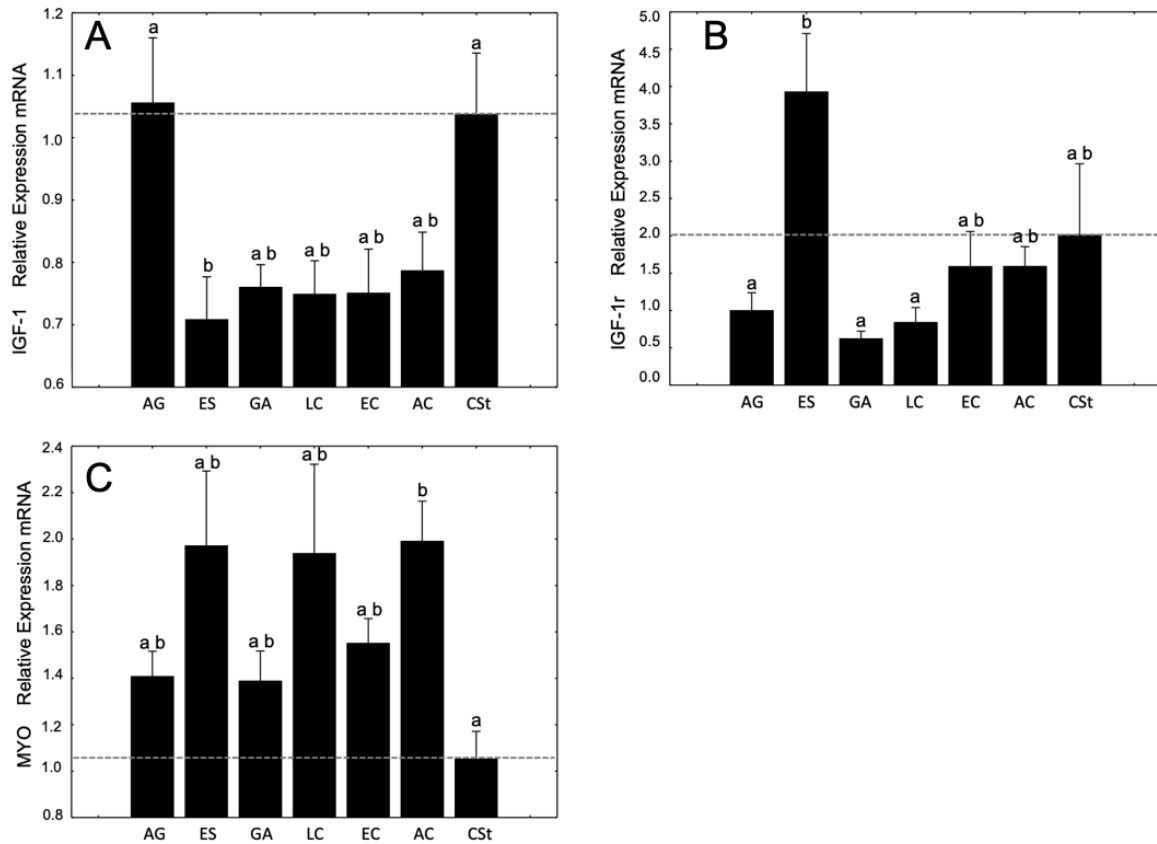


Figure 13. Relative changes in gene expression (mean \pm SE) of three target genes related to growth in deepwater redfish captured at the sampling stations (AG: Anticosti–Gaspé, ES: Estuary, GA: Gyre d'Anticosti, LC: Laurentian Channel, EC: Esquiman Channel, AC: Anticosti Channel, CSt: Cabot Strait). (A) liver insulin-like growth factor 1 (*igf-1*), (B) white muscle insulin-like growth factor 1 receptor (*igf-1r*), (C) muscle myosin (*myo*). The dashed horizontal lines indicate the normalized values for the calibrator group (CSt: the deepest, saltiest, and most highly oxygenated site). Different letters indicate significant differences among sites (Tukey HSD multiple comparison tests when data were homoscedastic [*igf-1*] and Games-Howell tests when data were heteroscedastic [*igf-1r*, *myo*]; $\alpha = 0.05$).

2.5.3 Genes involved in metabolism

In white muscle, a 424% higher expression of *pk* was observed in individuals captured at ES ($F = 9.10$, $p < 0.0001$; Figure 19A) compared to those from CSt, GA, and LC, with intermediate values at other sites. Deepwater redbfish captured at AG had a significantly higher expression of *ldh-a* (298%) compared to those in fish captured at all other sites except for CSt ($F = 3.84$, $p = 0.0025$; Figure 19B). The relative expression of *cox-1* in the heart was significantly higher in juveniles captured at ES (212%) compared to those captured at CSt, AG, LC, and AC, with intermediate values found in fish captured at the other sites ($F = 2.97$, $p = 0.019$; Figure 19C). Fish captured at EC had higher expressions of *cs* (204%) compared to fish captured in GA and LC ($F = 3.50$, $p = 0.0046$; Figure 19D).

2.5.4 Relationship between genomic indicators and site-scale and individual-scale characteristics

Correlations among explanatory variables were investigated. Salinity was excluded from the analysis because it was highly correlated with depth (Pearson's $r = 0.92$). The RDA model including all variables (individual-scale and site-scale) was significant ($p = 0.001$) and explained 18% of the variation in individual genomic indicators (adj $R^2 = 18\%$). Variation partitioning revealed that site-scale characteristics alone explained 12% of the variation ($p = 0.002$) and individual-scale characteristics alone explained 6% ($p = 0.011$); no shared fraction was explained by both types of variables together (Figure 20A). Variable selection indicated that weight and temperature had the strongest effect on genomic indicators: their importance was similar (weight: $F = 5.28$, $p = 0.002$; temperature: $F = 5.224$, $p = 0.006$), and the reduced model explained 11% of the variation ($p = 0.001$).

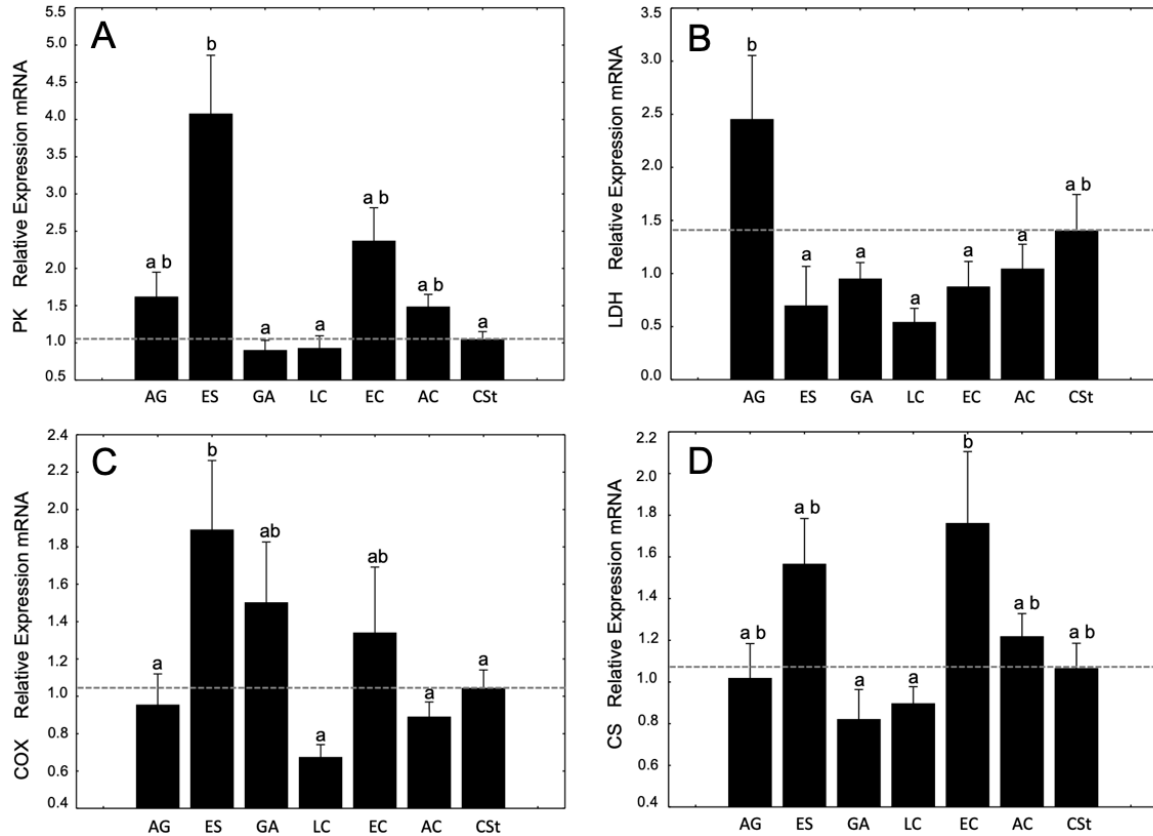


Figure 14. Relative changes in gene expression (mean \pm SE) of four target genes related to metabolism in deepwater redfish captured from the sampling stations (AG: Anticosti–Gaspé, ES: Estuary, GA: Gyre d'Anticosti, LC: Laurentian Channel, EC: Esquiman Channel, AC: Anticosti Channel, CSt: Cabot Strait). (A) white muscle pyruvate kinase (*pk*), (B) white muscle lactate dehydrogenase (*ldh*), (C) heart cytochrome c oxidase (*cox*), (D) heart citrate synthase (*cs*). The dashed horizontal line indicates the normalized values for the calibrator group (CSt: the deepest, saltiest, and most highly oxygenated site). Different letters indicate significant differences among sites (Tukey HSD multiple comparison tests when data were homoscedastic [*ldh*, *cs*] and Games-Howell tests when data were heteroscedastic [*pk*, *cox*]; $\alpha = 0.05$).

An RDA triplot illustrating the reduced model showed that deepwater redfish captured in ES were found in cold water and had the lowest weight (Figure 20B). The relative expressions of *igf-1* in liver and *ldh-a* in white muscle were positively correlated to weight, whereas *cs* in heart as well as *myo* and *pk* in white muscle were negatively correlated to weight. The relative expressions of heart *cox-1* and liver *igf-1ra* were not strongly correlated with weight, but they were negatively correlated with temperature. Other genomic indicators were not strongly affected by temperature.

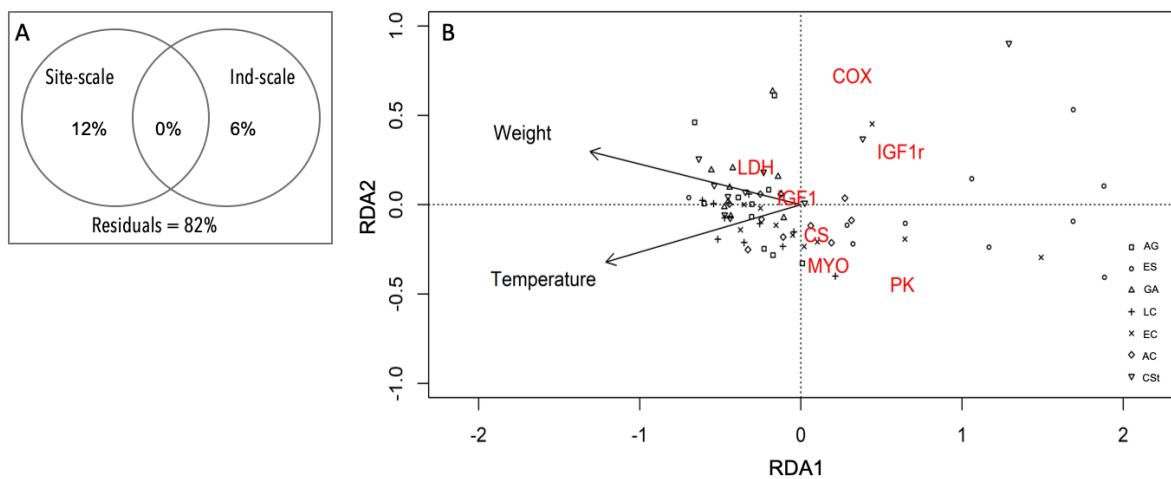


Figure 15. (A): Site-scale and individual-scale analyses. Variation partitioning, relationships between gene expression (Y) and site variables (X1: dissolved oxygen, temperature, depth, and redfish biomass) and individual variables (X2: length, weight, Fulton index). (B): Redundance analysis. *Scaling 1*- distance triplot (object focused). Selected explanatory variables are in black, indicators are in red, and fish from different sites are indicated by different symbols.

2.6 DISCUSSION

In this investigation, we hypothesized that studying the gene expression of growth and metabolism regulators could provide information on growth characteristics and indicate habitat suitability for deepwater redfish juveniles. Since weight and temperature explained most variations in the genomic indicators, this analysis highlights the relationships of genes correlated with these variables. Temperature could be the key to understanding growth differences of deepwater redfish in the EGSL.

2.6.1 Transcriptomics indicators and fish weight

The lowest and the highest relative expressions of liver *igf-1* were associated with the sites where the smallest and heaviest deepwater redfish were captured, respectively. This positive correlation between weight and liver *igf-1* has been previously described in different fish (e.g., Beckman, 2011), including rockfish *Sebastes serranoides* reared under laboratory conditions, and indicates that differences in expression may be attributed to the quantity of ingested food (Hack *et al.*, 2018). We also expected that high liver *igf-1* expression would be correlated with a high expression of white muscle *igf1-ra*, since IGF-1 binds to receptors on the surface of muscle cells to exert its action on muscle growth. However, the reverse situation was observed at ES and CSt, with low expressions of *igf-1* occurring with high expressions of *igf-1ra*. Similar results were reported for *Sebastes* by Hack *et al.* (2019), suggesting a negative relationship between muscle *igf1r* expression and fasting-associated decline in muscle *igf-1* expression that could indicate reduced muscle growth. Nevertheless, it is interesting to note that the opposite situation was observed in deepwater redfish captured at AG: the highest *igf-1* expression occurred with the lowest *igf-1ra* expression, even though the weights of individuals captured at this site were intermediate to those of fish captured at ES and CSt.

Deepwater redfish captured at ES also exhibited the highest relative expression of white muscle *pk*. High muscle *pk* expression has been associated with starvation in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and may indicate the breakdown of muscle proteins to

compensate for the lack of food intake (Johansen and Overturf, 2006). Results from a parallel study currently in progress (S. Brown-Villemin, Personal Communication) and made on the same fish as those used in our study showed that 70% of the stomachs from ES were empty while 90% of those from CSt were full. This could explain why the fish caught in ES were smaller and had the highest *pk* expression due to possible starvation. Furthermore, analysis of stomach content revealed that deepwater redfish at both sites were feeding on zooplankton, but zooplankton taxon composition differed.

The expression of *ldh-a* in white muscle was positively correlated with weight, but our data did not show any spatial pattern across the EGSL. A similar positive correlation was reported in *Sebastes goodei*, but negative correlations were found in *Sebastes alascanus* (Vetter and Lynn, 1997) and *Synphobranchus kaupii* (Bailey *et al.*, 2005). It has been also reported that LDH activity might be sensitive to environmental oxygen levels (Vetter and Lynn, 1997) and very sensitive to changes in nutritional condition during food limitation (Yang and Somero, 1996). According to this evidence, we could expect that deepwater redfish from CSt (highest dissolved oxygen) and ES (lowest dissolved oxygen) would show significantly different *ldh* expressions, but this was not the case. Indeed, there was no correlation between dissolved oxygen content and relative gene expressions in the EGSL. Unfortunately, we have no data to examine potential nutritional differences, which could explain our results across the EGSL.

The relative expression of white muscle *myo* was negatively correlated with weight in our study and differed only between fish captured at CSt and AC. These fish had significantly different weights, but no differences in terms of either length or condition factor. Contradictory results have been reported in gilthead sea bream *Sparus aurata* and rainbow trout *O. mykiss*, with negative correlations between weight and *myo* being reported by Azizi *et al.* (2016) and Overturf and Hardy (2001) and no correlation being reported by Alami-Durante *et al.* (2010) and Vélez *et al.* (2018). Therefore, the difference in *myo* gene expression observed between CSt and AC could be related to other factors, such as diet. However, an experiment with juvenile rainbow trout indicated that dietary differences were

not responsible for the expression of different myogenic factors, including *myo* (Alami-Durante *et al.*, 2010).

In general, CS activity typically decreases in larger individuals, and a negative correlation with weight has been reported in largemouth bass *Micropterus salmoides* and smallmouth bass *Micropterus dolomieu*, sunfish *Lepomis gibbosus* and *Lepomis macrochirus* (Davies and Moyes, 2007), barred sand bass *Paralabrax nebulifer* (Yang and Somero, 1996), and longspine thornyhead *Sebastolobus altivelis* (Vetter and Lynn, 1997). Aerobic metabolic activity is thought to scale negatively with size due to economies in the cost of oxygen transport with increasing body size (Vetter and Lynn, 1997). However, it should be remembered that the gene expression does not necessarily represent direct changes in protein levels due to the action of post-transcriptional mechanisms, that may lead to a disparity between mRNA abundance and enzyme activity (Craig *et al.*, 2007; Vagner and Santigosa, 2011; Velki *et al.*, 2017).

One may argue that the fish size standardization we did during sampling may have masked weight and length differences at different sites. However, we were able to find strong evidence that there were significant differences in gene expression between ES and the other sites. These results would suggest that even the slower-growing individuals at CSt would have better growth potential than the faster-growing individuals at ES. Such differences in growth potential between sites could result from biotic and abiotic differences between sites that could lead to (1) a disparity in the regulatory pathway at molecular levels, as found in this study, (2) higher metabolic costs that left less energy available for growth, or (3) differences in the nutritional quality of prey.

2.6.2 Transcriptomics indicators and temperature conditions

In ectotherms, growth strongly depends on environmental conditions, especially temperature (Fry, 1971). In deepwater redbfish, the relative expression of heart *cox-1* was

negatively correlated with temperature. This was clearly illustrated in our study when comparing the different capture sites: fish caught in ES (the coldest zone) showed a higher expression of heart *cox-1* compared to the warmest sites (CSt, AG, LC, AC). Cold acclimation in wild fish typically leads to an increase in COX activity due to an increase in mitochondrial gene expression (Bremer and Moyes, 2011). This may be a compensatory mechanism to overcome the negative thermodynamic effects of cold on processes relying on enzymatic reactions (e.g., Nathanailides, 1996). Indeed, changes in water temperature can have pronounced effects on physiological processes such as muscle and cardiovascular function as well as metabolism and growth (e.g., Little *et al.*, 2020). In Atlantic salmon *Salmo salar*, COX activity increased rapidly with lower temperature (Nathanailides, 1996). In contrast, no relationship was observed between COX activity and temperature in Atlantic cod *Gadus morhua* (Pelletier *et al.*, 1995). Contrary to our findings (no correlation between *ldh-a* expression and temperature), *ldh* expression in black rockfish *Sebastes schlegelii* increased with warmer temperatures and showed differences among tissues: expressions were higher in liver and brain and lower in muscle (Song *et al.*, 2019). There are two metabolic strategies available to ectotherms: (1) increased metabolism to compensate for temperature-mediated decreases in the metabolic rate, or (2) suppressed metabolic rate to reduce energy consumption (Song *et al.*, 2019). Deepwater redfish from ES seem to use a combination of both: anaerobic metabolism (*ldh-a*) is down regulated and aerobic metabolism (*cox-1*) is up regulated in cold water.

The relative expression of white muscle *igf-1ra* was negatively correlated with temperature. It is surprising that this gene does not show any strong correlation with weight and yet does with temperature. The mechanisms mediating the effects of temperature on growth — and more specifically, on the regulation of the GH–IGF1 axis — are not well understood. Nevertheless, increases in temperature associated with global climate change are likely to have strong effects on fish physiology and thereby on populations and fisheries (e.g., Little *et al.*, 2020; Ghinter *et al.*, 2021).

The EGSL can be separated into three distinct depth layers characterized by temperature conditions: the surface layer, the cold intermediate layer, and the deepwater layer. The deepwater layer, where deepwater redfish were captured and where temperatures range around 5–6°C (> 250 m) throughout the year (Galbraith *et al.*, 2019), is mostly isolated from exchanges with the surface and is very stable across depth (150–500 m). The temperature difference observed during the survey between the coldest (ES) and the warmest (CSt) sites was 0.7°C. However, according to Bourdages *et al.* (2019), the mean temperature in August 2018 at 300 m was 5.6°C in ES and 6.8°C in CSt (a difference of 1.2°C). Considering the stability of the deep-water layer, this difference could impact deepwater redfish physiology. This has been found to be the case in other fish species: Ghinter *et al.* (2021) found that a difference of 2°C can exceed the optimal temperature range for growth in Greenland halibut *Reinhardtius hippoglossoides* in the bottom waters of the EGSL.

2.6.3 Gene expression and other physicochemical variables

Other variables (salinity, depth, and redfish biomass) do not appear to correlate with gene expression in deepwater redfish in the EGSL, but deepwater redfish captured in ES differed from those from the other sites. ES is also characterized by low oxygen content, and low oxygen conditions were also found at GA and AC. However, general fish condition (length, weight, and condition factor) seemed to be better at GA and AC compared to ES. Indeed, our analysis did not confirm any correlation with oxygen levels.

Considering the data from our study, energy costs seem to be higher in ES, as suggested by the up regulation of *cs* and *cox-1*, but we are not able to precisely identify the factors explaining this. Because energy may be diverted from growth when gonad maturation begins, it is important to compare individuals at the same developmental stage. Differences among sampling sites could be related to differences in maturation stage that were not visually observable during sampling. Even though we do not have data to support this statement, it seems unlikely that gonad maturation would have been more advanced in the

coldest areas (with the smallest fish). Future studies targeting fish of different sizes from each site would be useful to address this question.

2.7 CONCLUSION

Deepwater redbfish from the same cohorts captured at different sites present different patterns of gene expression that are related to their weight and to the temperature conditions of the sites. We found that (1) the relative expressions of liver *igf-1* and white muscle *ldh-a* were found to correlate positively with weight, (2) white muscle *pk* and *myo* as well as heart *cs* were negatively correlated with weight, and (3) white muscle *igf-1ra* and heart *cox-1* were negatively correlated with temperature. We thus suggest that liver *igf-1*, white muscle *igf-1ra* and *pk*, and heart *cox-1* could be used as growth indicators for field surveys. Since the weight of deepwater redbfish is positively correlated with temperature (even enhanced at higher temperatures), this study suggests an ecological advantage for this species in a climate-warming context. For this reason, monitoring the gene expression response related to increased water temperatures will certainly improve our understanding of this species' population dynamics and help us identify the physiological mechanisms underlying observed differences. More broadly, transcriptomics could be an important tool for investigating growth in a deep-sea fish whose physiology is difficult to study. The inclusion of more ecological variables such as prey abundance could improve our understanding of fish physiology in future studies.

2.8 ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to all who provided technical and scientific assistance in the laboratory and field. Special thanks to Renée Gagné and Sarah Brown-Vuillemin (Institut des sciences de la mer de Rimouski) and Hugues Benoit, Jean-François Lussier, Denis Bernier, Pierre-Marc Scallon-Chouinard, Marie-Julie Roux, and Jérôme Gagnon (Fisheries and Oceans Canada), who contributed to deepwater redbfish collection; Geneviève Parent and Éric Parent (Fisheries and Oceans Canada), who helped with sequencing; and Hugo Bourdages (Fisheries and Oceans Canada) who planned the scientific campaign. This research was supported by

the Fonds des partenariats 2017-18 *Retour des poissons de fond dans l'estuaire et le nord du golfe du Saint-Laurent* of Fisheries and Oceans Canada and by the *Ressources Aquatiques Québec* research network (*Regroupement stratégique des Fonds de recherche du Québec*).

DISCUSSION GÉNÉRALE

RAPPEL DU CONTEXTE DE CETTE ÉTUDE

L'industrie aquacole doit constamment améliorer l'efficacité des processus d'élevage, raison pour laquelle différents programmes de sélection génétique ont été mis en place depuis plus de vingt ans pour augmenter la croissance et retarder la maturation sexuelle chez l'omble de fontaine (Audet et Bernatchez, 2004). Au Québec, beaucoup d'études ont contribué à mieux comprendre cette espèce et les processus de sélection mis en place. Ainsi, Boula *et al.* (2002) ont étudié les aspects liés à l'anadromie, Perry *et al.* (2004, 2005a) ont étudié les modèles de contrôle génétique chez les jeunes stades, Crespel *et al.* (2013a), les variations phénotypiques liées à la croissance chez des poissons en domestication appartenant à différentes souches, et Sauvage *et al.* (2010) et Bastien *et al.* (2011) ont étudié les effets de la domestication au cours des générations. Cependant, les mécanismes moléculaires qui sous-tendent la régulation de la croissance n'ont pas été étudiés en profondeur ni comparés entre les lignées contrôles (croisements au hasard) et sélectionnées.

Les connaissances acquises sur les espèces aquacoles pourraient nous aider à mieux comprendre la croissance chez les poissons sauvages pour lesquels des modèles multigénérationnels n'existent pas. En ce sens, la transcriptomique est un bon outil pour étudier la réponse physiologique *in situ*, en permettant d'intégrer les conditions environnementales qui ne peuvent pas être répliquées en laboratoire, telle que la profondeur. De telles intégrations sont fondamentales pour évaluer la dynamique des populations et éventuellement contribuer aux modèles de gestion des stocks (Hack *et al.*, 2018). Cette possibilité d'étudier la réponse physiologique *in situ* (en respectant les conditions environnementales qui ne peuvent pas être répliquées en laboratoire, telle que la profondeur) est fondamentale. Pour cette thèse, nous avons visé l'étude du stock de *Sebastes* spp., espèce

de grande profondeur, qui grâce à un fort recrutement entre les années 2011 et 2013, est appelée à soutenir l'une des plus importantes pêches commerciales dans l'EGSL (DFO, 2018b). On ne dispose que de peu de connaissances sur sa physiologie et sa croissance (e.g. DFO, 2018b). Cette thèse visait également le transfert de connaissances vers les secteurs d'activité concernés.

LA RÉGULATION DE LA CROISSANCE AU NIVEAU MOLÉCULAIRE CHEZ LES POISSONS D'INTÉRÊT COMMERCIAL

Nos résultats suggèrent que la stimulation positive de l'axe *gh/igf-1* pourrait être responsable de la croissance différentielle observée entre les ombles de fontaine sélectionnés et contrôles (37,2 % de la masse après cinq générations). Cette régulation positive, notamment d'*igf-1*, sur la croissance a déjà été démontrée chez d'autres salmonidés tels que le saumon coho, le saumon royal, et le saumon atlantique (Beckman *et al.*, 2004b; Beckman, 2011). Les résultats de cette thèse montrent également une stimulation d'*igf-1* chez le sébaste dans les zones où les individus plus grands ont été capturés (détroit de Cabot) est concorde avec ceux observés chez une autre espèce de sébastes *S. serranoides* chez laquelle la variation dans l'expression d'*igf-1* dans le foie était positivement corrélée à la croissance (Hack *et al.*, 2018).

Un des éléments originaux de cette étude est d'avoir mis en évidence le rôle que joue la régulation de l'appétit sur la croissance des poissons, qu'ils soient sauvages ou non. Chez l'omble de fontaine, nous avons pu constater que la surexpression de certains gènes, en particulier de *lepr*, peut être une caractéristique permettant d'identifier les familles à faible performance « low performance » ou les individus avec un phénotype faible-croissance « slow-growing » (Figure 21). Le mécanisme sous-jacent pourra être non seulement l'inhibition de la consommation alimentaire, mais aussi une augmentation du métabolisme résultant en une perte de masse (Klok *et al.*, 2007; Volkoff, 2016; Blanco et Soengas, 2021).

Ce même patron de diminution ou d'augmentation du métabolisme a été observé chez les sébastes capturés dans l'estuaire (ES, phénotype « faible-croissance »), à travers la surexpression de *cox* associée à une augmentation du métabolisme, et à celle de *pk*, associée chez d'autres espèces à des épisodes de jeûne (Johansen et Overturf, 2006). Dans le cas des phénotypes « faible-croissance », il est également possible que des événements survenant à un stade précoce du développement aient joué un rôle important dans le déterminisme du métabolisme à long terme (Figure 21).

Puisque les facteurs liés aux conditions d'élevage (température, oxygène, photopériode, composition de l'aliment, ration alimentaire) de l'omble de fontaine étaient identiques entre les groupes, on ne peut pas associer la variation de performance à ces facteurs. En conséquence, on peut se demander si le processus de sélection a pu également modifier l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme. Si c'était le cas, cela pourrait les rendre plus efficaces, en permettant d'allouer une plus grande quantité d'énergie disponible pour la croissance chez certains groupes d'individus. Ces différences au niveau du métabolisme ont été observées dans le cas du sébaste, où outre les différences propres à un phénotype particulier, ils existent des différences abiotiques (dépendantes du site de capture) affectant les mécanismes régulant la croissance. Nos résultats indiquent que la variable environnementale qui est déterminante dans la croissance et le métabolisme chez le sébaste dans l'ESGL est la température (positivement corrélée à *igf-1* et négativement à *cox*), bien que la variation entre les différents sites d'échantillonnage soit faible. Le sébaste pourrait alors être fortement sensible à la température, et une très faible augmentation pourrait ainsi avoir un impact positif sur sa croissance (masse).

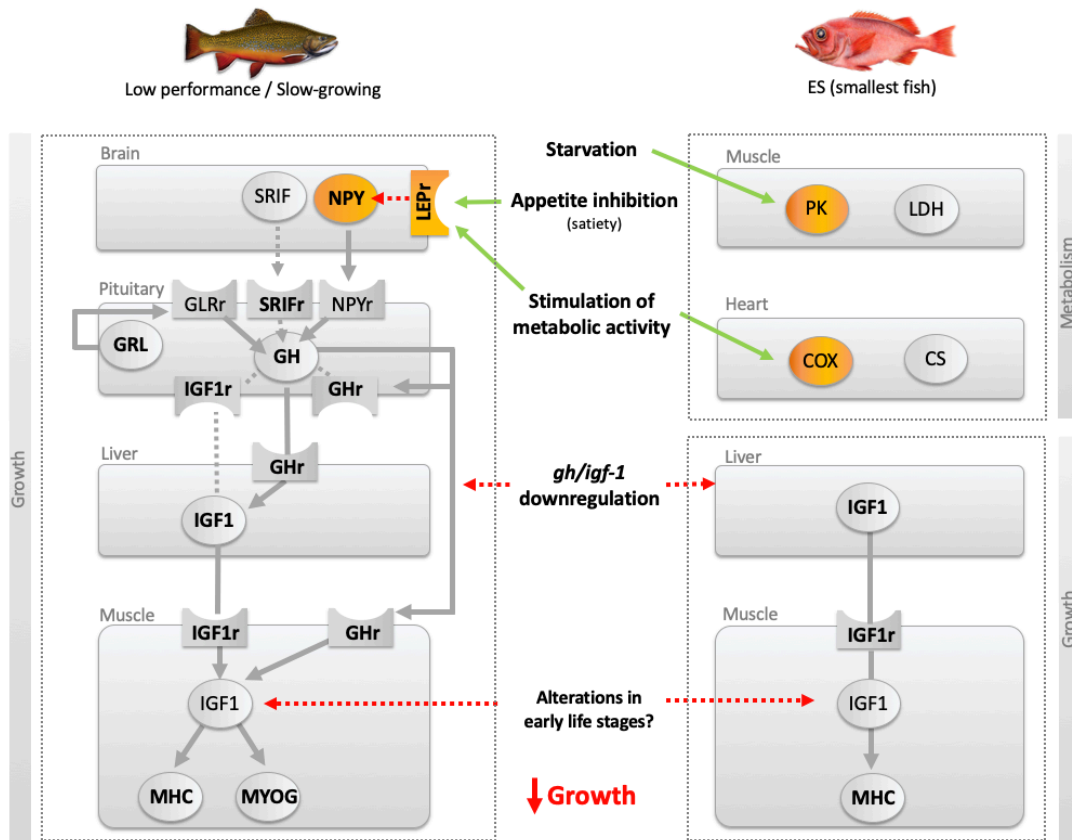


Figure 16. Représentation de la régulation génique liée à la croissance et au métabolisme chez l’omble de fontaine et le sébaste appartenant à des groupes caractérisés par un phénotype de faible-croissance « slow-growing ». Les gènes indiqués en orange sont surexprimés, les flèches vertes représentent les processus stimulés et les flèches rouges, les processus qui sont inhibés. Les caractères en gras représentent les gènes dont l’expression a été mesurée dans cette étude. Ce schéma représente l’expression des gènes et non l’activité des protéines. Les gènes indiqués en orange ont montré de différences d’expression. Les flèches continues indiquent une stimulation et les flèches en pointillées représentent des actions inhibitrices. Les caractères en gras représentent les gènes dont l’expression a été mesurée dans cette étude (*npy* = neuropeptide y; *lepr* = récepteur à la leptine; *grl* = ghréline; *srifr* = récepteur à la somatostatine; *gh* = hormone de croissance; *ghr* = récepteur à l’hormone de croissance; *igf-1* = facteur de croissance insulinique 1; *igf-1r* = récepteur du facteur de croissance insulinique 1; *mhc* = chaîne lourde de myosine; *myog* = myogénine).

Par exemple, une faible variation de température a eu des effets significatifs sur la croissance chez la population de flétan du Groenland dans l'ESGL (Ghinter *et al.*, 2021). Cependant, il reste encore beaucoup de lacunes dans les connaissances physiologiques de cette espèce, par exemple la tolérance thermique ou l'optimum thermique.

Dans le cas de poissons appartenant à des groupes (familles ou phénotypes individuels) caractérisés par une forte croissance « fast-growing », il est clair que la stimulation de l'axe *gh/igf-1* au niveau hypophysaire, hépatique et musculaire est responsable de la croissance différentielle observée (Figure 22). Pour aucune des deux espèces étudiées, nous n'avons trouvé de différences dans l'expression des gènes impliqués dans la construction de fibres musculaires, ce qui est surprenant étant donné que nous avons trouvé une surexpression de plusieurs des gènes impliqués dans l'axe *gh/igf-1*. Nos résultats suggèrent que les différences induites par *igf-1* pourraient se trouver dans les mécanismes moléculaires déployés au cours des premières étapes de la construction musculaire (activation et prolifération), et non dans les étapes de différenciation (*myog*) ou maturation (*mhc*) que nous avions visées. Ces premières étapes sont fondamentales pour la construction de nouvelles fibres musculaires et pour l'augmentation de la taille des cellules et fibres déjà existantes. Ainsi, l'étude de l'expression de gènes codant pour différents facteurs de transcription tels que Sox8, Myf5, MyoD2 et Pax7 (Vélez *et al.*, 2016) où la voie PI3K-AKT/TOR (Dupont et LeRoith, 2001) pourrait permettre d'explorer cette piste (Figure 22).

Nous avons constaté que l'approche transcriptomique est essentielle pour étudier et identifier les récepteurs des gènes impliqués dans la régulation endocrinienne de la croissance ce qui n'est possible qu'au travers de l'expression d'ARN messager. À la lumière de nos résultats, nous proposons l'utilisation de l'expression de *lepr* dans le cerveau comme indicateur physiologique de croissance pour identifier les phénotypes « faible-croissance » et l'expression d'*igf1-1* et de *ghr* dans le foie et les récepteurs *igf-1r* et *ghr* dans le foie et le muscle comme indicateurs physiologiques d'une forte croissance.

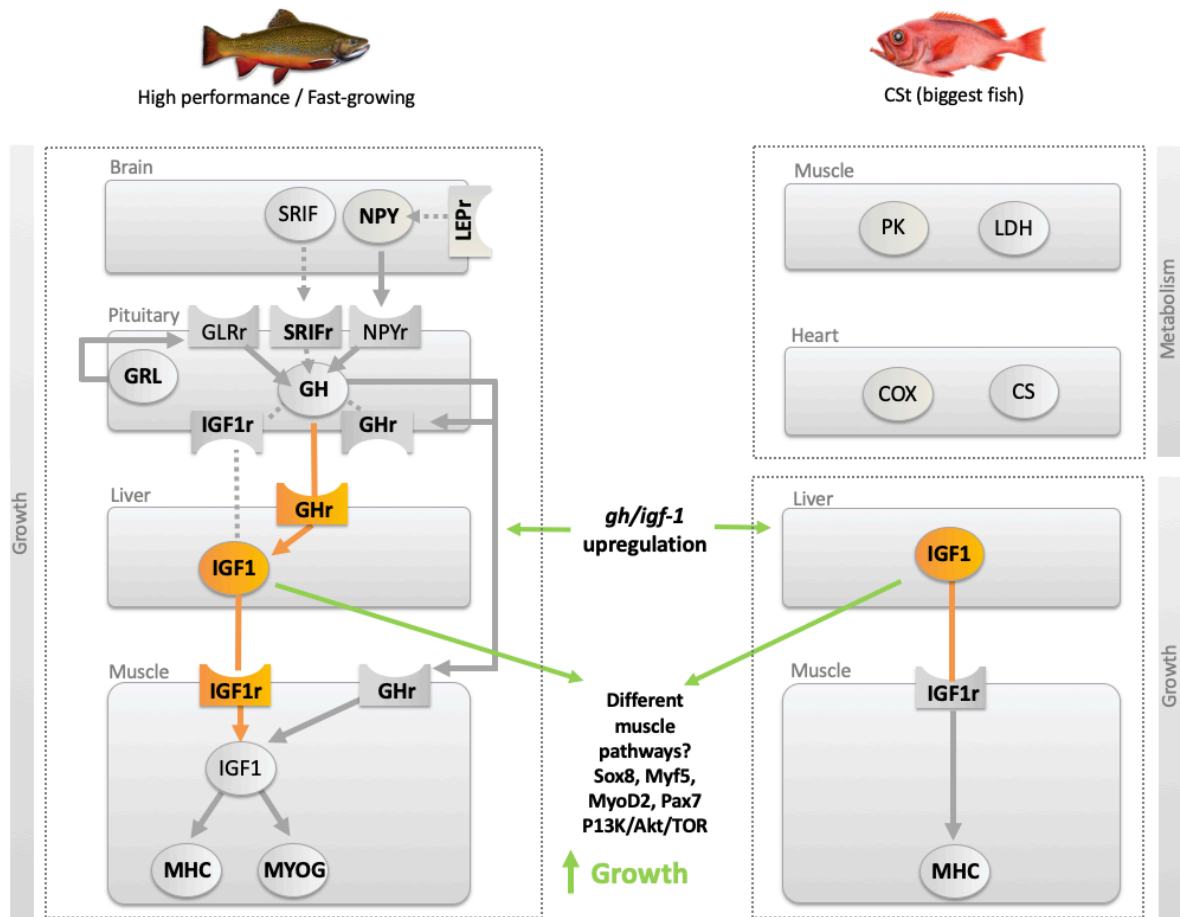


Figure 17. Représentation de la régulation génique liée à la croissance et au métabolisme chez l'omble de fontaine et le sébaste appartenant à des groupes caractérisés par une forte croissance « fast-growing ». Les gènes indiqués en orange sont surexprimés, les flèches vertes représentent les processus stimulés et les flèches rouges, les processus qui sont inhibés. Les caractères en gras représentent les gènes dont l'expression a été mesurée dans cette étude. Ce schéma représente l'expression des gènes et non l'activité des protéines. Les gènes indiqués en orange ont montré de différences d'expression. Les flèches continues indiquent une stimulation et les flèches en pointillées représentent des actions inhibitrices. Les caractères en gras représentent les gènes dont l'expression a été mesurée dans cette étude (*npy* = neuropeptide y; *lepr* = récepteur à la leptine; *grl* = ghréline; *srif*r = récepteur à la somatostatine; *gh* = hormone de croissance; *ghr* = récepteur à l'hormone de croissance; *igf-1* = facteur de croissance insulinique 1; *igf-1r* = récepteur du facteur de croissance insulinique 1; *mhc* = chaîne lourde de myosine; *myog* = myogénine).

IMPORTANCE DE CE TYPE D'ÉTUDES POUR LES ESPÈCES D'INTÉRÊT AQUICOLE ET HALIEUTIQUE

Globalement, il y a une nécessité de production de protéines et d'acides gras à longue chaîne pour la consommation humaine (les poissons étant le principal vecteur ; FAO, 2020). La façon la plus efficace de s'y prendre est d'améliorer le rendement de la production aquicole et de gérer durablement les stocks naturels. Pour atteindre cet objectif, une des premières étapes est de mieux comprendre les processus biologiques/physiologiques chez les espèces ciblées.

Au cours des dernières années, l'utilisation de nouvelles techniques moléculaires, telle que la transcriptomique, a contribué à l'obtention de connaissances physiologiques liées à l'élevage des espèces aquicoles (Benedito-Palos *et al.*, 2007; Pérez-Sánchez *et al.*, 2018), incluant par exemple le développement de souches de salmonidés transgéniques (Levesque *et al.*, 2008; Raven *et al.*, 2008). Cependant, l'avenir de l'aquaculture exige encore une amélioration de la croissance et de qualité du produit combinée à la durabilité de l'activité, mais on dispose encore (malgré l'augmentation d'études en transcriptomique) de très peu d'informations sur l'expression génique parmi toutes les hormones contrôlant la croissance somatique et le métabolisme (Vélez *et al.*, 2017).

Ce type d'études a aussi été utilisé récemment pour le suivi des populations de poissons sauvages (Andrews *et al.*, 2011; Ferriss *et al.*, 2014; Hack *et al.*, 2018; Wechter *et al.*, 2017). Selon Hack *et al.* (2018), l'application de cette approche endocrinienne/transcriptomique pourrait fournir des renseignements cruciaux sur la variation de la croissance des poissons sauvages, localement et à court terme, donnée difficilement accessible au moyen d'autres méthodes de quantification. Les mesures de l'expression des gènes proposés dans cette thèse pourraient servir d'indicateur pour l'identification des habitats propices à la croissance des poissons et permettre une gestion plus efficace des stocks de poissons sauvages dans un avenir proche.

Cette approche pourrait être appliquée à l'étude de l'adaptation de poissons sauvages aux changements climatiques. Dans ce contexte, la température ayant un effet modulateur sur la physiologie des organismes ectothermes comme les poissons, leur réponse aux changements thermiques devrait donc être incluse dans les plans de gestion, tant pour la conservation que pour la gestion des pêches (Little *et al.*, 2020). D'ailleurs, si la variation de température de l'eau affecte de façon différente les proies et prédateurs, on pourrait observer des situations de « mis-match ». Ainsi, le réchauffement des masses d'eau dans l'EGSL devrait non seulement favoriser la croissance du sébaste, mais également modifier ses relations proies-prédateurs (zooplancton, crevettes ou petits poissons) et les mécanismes physiologiques associés à la régulation de l'appétit.

DIFFICULTÉS RENCONTRÉES AU COURS DE CE DOCTORAT

Chez l'omble de fontaine, en plus des gènes étudiés, nous avons prévu l'analyse de *srif* et *lep*, mais nous n'avons jamais réussi à obtenir de bonnes séquences pour le design des amorces, raison pour laquelle nous avons plutôt ciblé leurs récepteurs respectifs. Par ailleurs, des nombreux échantillons tissulaires ont pu être obtenus lors de ce travail. Bien sûr, tout n'a pu être analysé, car ceci aurait demandé un effort en temps considérable, dépassant le temps imparti à la réalisation de ce doctorat. Ces échantillons sont toujours conservés au congélateur et pourraient éventuellement servir à des analyses ultérieures.

Cette thèse a également permis de relever un défi important en adaptant des plans d'échantillonnage aux contraintes imposées par des campagnes en mer. Pour la portion sébastes, malgré un plan d'échantillonnage détaillé, il y avait toujours des enjeux techniques à bord du bateau, enjeux sur lesquels nous n'avons aucun contrôle, incluant le nombre de stations échantillonnées pour chacun des sites. Le prélèvement des tissus devait être fait le plus rapidement possible afin de garantir que l'individu soit encore vivant et ainsi éviter la dégradation de l'ARNm, alors que les seuls individus que nous pouvions échantillonner

étaient ceux qui avaient plus de 8 rayons (pour garantir une plus grande possibilité d'échantillonner *S. mentella*) et qui n'avaient pas régurgité leur estomac (indice de stress physiologique lors de la remontée). Ceci posait un défi tout particulier lors des journées de tempêtes.

Pour *S. mentella*, nous avons pu acquérir des nouvelles données génomiques, jusqu'ici pratiquement inexistantes. Il a fallu tout d'abord identifier des séquences chez des espèces apparentées (parfois pas aussi apparentées qu'on l'aurait souhaité), ce qui a limité le nombre de gènes que l'on pouvait étudier. Certains gènes importants dans la régulation de la croissance et qui avaient été identifiés initialement, tels que *gh* et *ghr*, n'ont pu être étudiés malgré les efforts consentis pour trouver des amorces efficaces.

Notons enfin que ce travail a pu être réalisé dans son entièreté, alors que deux années sur quatre étaient en période de COVID-19. Non seulement la pandémie a limité les accès au laboratoire et aux ressources de recherche, mais la forte demande pharmaceutique s'est traduite par une pénurie globale de matériel de laboratoire, notamment pour tout ce qui se rapportait à l'extraction d'ARN et qPCR, matériel qui était essentiel pour la réalisation de ce doctorat.

PERSPECTIVES

Cette thèse de doctorat ne met certainement pas fin aux études pouvant être réalisées chez l'omble de fontaine et plus particulièrement sur l'effet de la sélection. Tout d'abord, nos résultats sur le muscle mettent en évidence que ce ne sont pas les gènes de différenciation et de maturation musculaire qui sont stimulés par l'axe *gh/igf1*. Nous proposons l'étude future de l'expression de gènes impliqués aux premiers stades d'activation de la myogenèse tel que l'antigène nucléaire de prolifération cellulaire (PCNA) et l'expression de gènes codant pour différents facteurs de transcription tels que *Sox8*, *Myf5*, *MyoD2* et *Pax7* (Vélez *et al.*, 2016). Il est à noter que nous avons conservé de l'ADNc de cerveau, foie et muscle, pour l'ensemble de nos échantillons, ce qui permettrait de poursuivre éventuellement cette étude de

transcriptomique. Aussi, des échantillons de cerveaux d'omble de fontaine ont été analysés ultérieurement à l'aide de puces transcriptomiques développées dans le cadre du projet GenFISH (Programme d'importance financé par Génome Canada et visant le développement d'outils transcriptomiques pour l'étude des espèces des poissons d'eau douce d'intérêt pour l'aquaculture, les pêches récréatives, et les pêches commerciales). Les résultats de cette étude qui touchent l'expression d'autres gènes reliés à l'appétit, le stress et le comportement devraient être publiés dans un avenir proche.

L'utilisation de la transcriptomique est appelée à devenir un outil essentiel pour générer de nouvelles connaissances sur la physiologie d'espèces de poissons sauvages, surtout celles dont les conditions d'habitats ne permettent pas de les étudier *in situ* et ainsi contribuer à la prise de décisions sur la gestion des stocks en fournissant des informations sur les potentiels de croissance observés dans différents habitats ou différentes zones géographiques. Notre étude est un bon exemple de l'utilité de la transcriptomique pour les études *in situ* pour des espèces utilisant des environnements dont les conditions sont difficilement reproductibles.

Les résultats obtenus chez *S. fontinalis* peuvent aussi contribuer à envisager un nouveau critère d'évaluation dans la sélection basée sur les différences de phénotypes observées, en utilisant comme indicateurs physiologiques de croissance l'expression de gènes reliés au contrôle de l'appétit.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Cette étude avait pour objectif d'identifier des indicateurs physiologiques de croissance et du métabolisme chez des espèces d'intérêt aquacole et halieutique. Pour cette raison, l'expression génique de l'axe *gh/igf-1*, ainsi que de gènes impliqués dans le contrôle de l'appétit et la construction musculaire a été étudiée chez des juvéniles d'omble de fontaine et de sébaste avec deux propos différents (effet de la sélection et de l'environnement), mais en

utilisant la même approche transcriptomique. Chez les deux espèces, on a constaté que la régulation de la croissance semble fonctionner de la même façon, mettant de l'avant l'importance d'*igf-1*, et pour la première fois à notre connaissance, le rôle de *lepr* comme facteur clé dans la performance familiale et le phénotype individuel. De la même façon, chez les deux espèces, le phénotype « faible-croissance » est caractérisé par une surexpression de gènes reliés au métabolisme (tels que *lepr* dans le cas de l'omble de fontaine et *pk* et *cox* dans le cas du sébaste) tandis que pour le phénotype « forte-croissance », la régulation positive de l'axe *gh/igf-1* semble la clé. Cette thèse suggère que *igf-1* dans le foie et son récepteur *igf-1r* dans le muscle peuvent être utilisés comme indicateurs de croissance, tandis que *cox* dans le cœur et *cs* dans le muscle sont respectivement d'intérêt comme indicateurs de l'activité du métabolisme aérobie et anaérobie. Contrairement à nos attentes, les deux gènes impliqués dans la construction musculaire n'ont eu aucun effet sur la croissance des juvéniles chez les deux espèces et il est possible que les différences de taille et de performance soient mieux expliquées par l'expression d'autres gènes impliqués à d'autres étapes de la croissance musculaire. Nos résultats sur les deux espèces ont fait ressortir l'importance d'approfondir nos connaissances sur l'expression des récepteurs des gènes impliqués dans la régulation de la croissance (*ghr*, *igf-1r*) et pour laquelle la transcriptomique est un moyen d'étude efficace.

Chez l'omble de fontaine, les résultats nous ont permis de mettre en évidence une différence significative de 37,2 % dans la croissance (en taille et en masse) des juvéniles issus de la sélection. Globalement, les résultats suggèrent qu'après cinq générations, le plein potentiel de sélection génétique n'a pas encore été atteint. Les résultats de notre étude sur le sébaste suggèrent que la température est la variable environnementale qui influence le plus leur métabolisme, et qu'en fait, l'augmentation de la température peut favoriser leur croissance comme chez les individus capturés au détroit de Cabot (le site le plus chaud) et d'autre part, que l'estuaire du Saint-Laurent est le site le moins favorable dû à l'effet de températures plus froides sur la régulation de la croissance. Les résultats de transcriptomique suggèrent que l'emploi d'*igf-1* dans le foie et son récepteur *igf-1r* dans le muscle peuvent être utilisés comme indicateurs de croissance, tandis que *cox* dans le cœur et *cs* dans le muscle

sont respectivement d'intérêt comme indicateurs de l'activité du métabolisme aérobie et anaérobie.

Finalement, ces travaux ont grandement contribué à enrichir nos connaissances sur la physiologie des poissons d'intérêt commercial et ils ont démontré que les connaissances acquises avec les espèces aquacoles sont transférables au domaine halieutique. Nous avons également mis en évidence que la transcriptomique est un outil très puissant pour générer de nouvelles informations permettant de répondre à différents objectifs de recherche.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ahammad, A. K. S., Asaduzzaman, M., Asakawa, S., Watabe, S., and Kinoshita, S. 2015. Regulation of gene expression mediating indeterminate muscle growth in teleosts. *Mechanisms of Development*, 137: 53–65.
- Ahima, R. S., Saper, C. B., Flier, J. S., and Elmquist, J. K. 2000. Leptin regulation of neuroendocrine systems. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 21: 263–307.
- Alami-Durante, H., Médale, F., Cluzeaud, M., and Kaushik, S. J. 2010. Skeletal muscle growth dynamics and expression of related genes in white and red muscles of rainbow trout fed diets with graded levels of a mixture of plant protein sources as substitutes for fishmeal. *Aquaculture*, 303: 50–58.
- Aldegunde, M., and Mancebo, M. 2006. Effects of neuropeptide Y on food intake and brain biogenic amines in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Peptides*, 27: 719–727.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., and Lipman, D. J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215: 403–410.
- Anderson, J. H., Faulds, P. L., Atlas, W. I., Pess, G. R., and Quinn, T. P. 2010. Selection on breeding date and body size in colonizing coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Molecular Ecology*, 19: 2562–2573.
- Andrews, K. S., Beckman, B. R., Beaudreau, A. H., Larsen, D. A., Williams, G. D., and Levin, P. S. 2011. Suitability of insulin-like growth factor 1 (IGF1) as a measure of relative growth rates in lingcod. *Marine and Coastal Fisheries*, 3: 250–260.
- Audet, C., and Bernatchez, L. 2004. La souche Laval, le pourquoi et le comment. *L'Aquicole, Revue de l'Association des aquaculteurs du Québec*, 10: 9–11.

- Azizi, S., Nematollahi, M. A., Mojazi Amiri, B., Vélez, E. J., Salmerón, C., Chan, S. J., Navarro, I. 2016. IGF-I and IGF-II effects on local IGF system and signaling pathways in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cultured myocytes. *General and Comparative Endocrinology*, 232: 7–16.
- Bailey, D. M., Genard, B., Collins, M. A., Rees, J. F., Unsworth, S. K., Battle, E. J. V, Bagley, P. M. 2005. High swimming and metabolic activity in the deep sea eel *Synaphobranchus kaupii* revealed by integrated *in situ* and *in vitro* measurements. *Physiological and Biochemical Zoology*, 78: 335–346.
- Ballantyne, J. 2014. Membranes and metabolism. *In* The physiology of fishes, Fourth edition, 480 p. Ed: D. H. Evans, J. B. Claiborne, and S. Currie. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Bastien, A., Perry, G. M. L., Savaria, J., Bernatchez, L., and Audet, C. 2011. Genetic gain for growth and delayed sexual maturation using a feral strain of anadromous brook trout. *North American Journal of Aquaculture*, 73: 24–33.
- Beaudreau, A. H., Andrews, K. S., Larsen, D. A., Young, G., and Beckman, B. R. 2010. Variation in plasma levels of insulin-like growth factor-I (IGF-I) in lingcod: relationships among season, size and gonadal steroids. *Marine Biology*, 158: 239–250.
- Beckman, B. R. 2011. Perspectives on concordant and discordant relations between insulin-like growth factor 1 (IGF1) and growth in fishes. *General and Comparative Endocrinology*, 170: 233–252.
- Beckman, B. R., Larsen, D. a, Moriyama, S., Lee-Pawlak, B., and Dickhoff, W. W. 1998. Insulin-like growth factor-I and environmental modulation of growth during smoltification of spring chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *General and Comparative Endocrinology*, 109: 325–335.
- Beckman, B. R., Shimizu, M., Gadberry, B. A., and Cooper, K. A. 2004a. Response of the somatotrophic axis of juvenile coho salmon to alterations in plane of nutrition with an analysis of the relationships among growth rate and circulating IGF-I and 41 kDa

- IGFBP. *General and Comparative Endocrinology*, 135: 334–344.
- Beckman, B. R., Fairgrieve, W., Cooper, K. A., Mahnken, C. V. W., and Beamish, R. J. 2004b. Evaluation of endocrine indices of growth in individual postsmolt coho salmon. *Transactions of the American Fisheries Society*, 133: 1057–1067.
- Benedito-Palos, L., A., Saera-Vila, J.-A., Calduch-Giner, S., Kaushik, A., and Pérez-Sánchez, J. 2007. Combined replacement of fish meal and oil in practical diets for fast-growing juveniles of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.): networking of systemic and local components of GH–IGF axis. *Aquaculture*, 267: 199–212.
- Benestan, L., Rougemont, Q., Senay, C., Normandeau, E., Parent, E., Rideout, R., Bernatchez, L., Lambert, Y., Audet, C., Parent, G. 2021. Population genomics and history of speciation reveal fishery management gaps in two related redfish species (*Sebastes mentella* and *Sebastes fasciatus*). *Evolutionary Applications*: 1–19.
- Bergan-Roller, H. E., and Sheridan, M. A. 2018. The growth hormone signaling system : Insights into coordinating the anabolic and catabolic actions of growth hormone. *General and Comparative Endocrinology*, 258: 119–133.
- Bern, H. A. 1990. The new endocrinology—Its scope and its impact. *American Zoologist*, 30: 877–885.
- Björnsson, B. T. 1997. The biology of salmon growth hormone : from daylight to dominance. *Fish Physiology and Biochemistry*, 17: 9–24.
- Björnsson, B. T., Johansson, V., Benedet, S., Einarsdottir, I. E., Hildahl, J., Agustsson, T., and Jönsson, E. 2002. Growth hormone endocrinology of salmonids: Regulatory mechanisms and mode of action. *Fish Physiology and Biochemistry*, 27: 227–242.
- Blanchet, F. G., Legendre, P., and Borcard, D. 2008. Modelling directional spatial processes in ecological data. *Ecological Modelling*, 215: 325–336.
- Blanco, A. M., and Soengas, J. L. 2021. Leptin signalling in teleost fish with emphasis in

- food intake regulation. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 526-539.
- Boula, D., Castric, V., Bernatchez, L., and Audet, C. 2002. Physiological, endocrine, and genetic bases of anadromy in the brook charr, *Salvelinus fontinalis*, of the Laval River (Québec, Canada). *Environmental Biology of Fishes*, 64: 229–242.
- Bourdages, H., Brassard, C., Desgagnes, M., Galbraith, P., Gauthier, J., Legare, B., Nozores, C. 2019. Preliminary results from the groundfish and shrimp multidisciplinary survey in August 2018 in the Estuary and northern Gulf of St. Lawrence. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc.: 88.
- Bower, N. I., Li, X., Taylor, R., and Johnston, I. A. 2008. Switching to fast growth: the insulin-like growth factor (IGF) system in skeletal muscle of Atlantic salmon. *Journal of Experimental Biology*, 211: 3859–3870.
- Brassard, C., Bourdages, H., Duplisea, D., Gauthier, J., and Valentin, A. 2017. L'état des stocks de sébaste (*Sebastes fasciatus* et *S. mentella*) de l'unité 1 (golfe du Saint-Laurent) en 2015. DFO Can. Sci. Advis. Sec., Res. Doc.: ix + 52 p. Ottawa.
- Bremer, K., and Moyes, C. D. 2011. Origins of variation in muscle cytochrome c oxidase activity within and between fish species. *Journal of Experimental Biology*, 214: 1888–1895.
- Breton, B., Mikolajczyk, T., Danger, J., Gonnet, F., Saint-Pierre, S., and Vaudry, H. 1989. Neuropeptide Y (NPY) modulates in vitro gonadotropin in release from rainbow trout pituitary glands. *Fish Physiology and Biochemistry*, 7: 77–83.
- Breves, J. P., Phipps-costin, S. K., Fujimoto, C. K., Einarsdottir, I. E., Regish, A. M., Thrandur, B., and McCormick, S. D. 2016. Hepatic insulin-like growth-factor binding protein (igfbp) responses to food restriction in Atlantic salmon smolts. *General and Comparative Endocrinology*, 233: 79–87.
- Brim. 2015. *Sebastes mentella*. Document on ligne: <https://www.brimhf.is/wp->

content/uploads/2015/11/djupkarfi.jpg.

- Cadrin, S. X., Bernreuther, M., Daniélsdóttir, A. K., Hjörleifsson, E., Johansen, T., Kerr, L., Kristinsson, K. 2010. Population structure of beaked redfish, *Sebastes mentella*: Evidence of divergence associated with different habitats. *ICES Journal of Marine Science*, 67: 1617–1630.
- Campana, S.E., Zwanenburg, K. C. T., and Smith, J. N. 1990. $^{210}\text{Pb}/^{226}\text{Ra}$ determination of longevity in redfish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47: 163–165.
- Campana, S. E., Valentin, A., Sévigny, J.-M., and Power, D. 2007. Tracking seasonal migrations of redfish (*Sebastes* spp.) in and around the Gulf of St. Lawrence using otolith elemental fingerprints. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 64: 6–18.
- Campana, S. E., Valentin, A. E., MacLellan, S. E., and Groot, J. B. 2016. Image-enhanced burnt otoliths, bomb radiocarbon and the growth dynamics of redfish (*Sebastes mentella* and *S. fasciatus*) off the eastern coast of Canada. *Marine and Freshwater Research*, 67: 925–936.
- Campos, C., Valente, L. M. P., Conceição, L. E. C., Engrola, S., and Fernandes, J. M. O. 2014. Molecular regulation of muscle development and growth in Senegalese sole larvae exposed to temperature fluctuations. *Aquaculture*, 432: 418–425.
- Canosa, L. F., Chang, J. P., and Peter, R. E. 2007. Neuroendocrine control of growth hormone in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 151: 1–26.
- Castonguay, M., FitzGerald, G. J., and Cote, Y. 1982. Life history and movements of anadromous brook charr, *Salvelinus fontinalis*, in the St-Jean River, Gaspé, Quebec. *Canadian Journal of Zoology*, 60: 3084–3091.
- Cerdá-Reverter, J. M., and Larhammar, D. 2000. Neuropeptide Y family of peptides:

- Structure, anatomical expression, function, and molecular evolution. *Biochemical Cell Biology*, 78: 371–392.
- Chauvigné, F., Gabillard, J. C., Weil, C., and Rescan, P. Y. 2003. Effect of refeeding on IGFI, IGFII, IGF receptors, FGF2, FGF6, and myostatin mRNA expression in rainbow trout myotomal muscle. *General and Comparative Endocrinology*, 132: 209–215.
- Clark, D. P., Pazdernik, N. J., and McGehee, M. R. 2019a. Basic Genetics. *In Molecular Biology*, 3th edition, pp. 38–62. Elsevier Inc., London.
- Clark, D. P., Pazdernik, N. J., and McGehee, M. R. 2019b. Analysis of Gene Expression. *In Molecular Biology*, 3th edition, pp. 654–690. Elsevier Inc., London.
- Cleveland, B. M., Gao, G., and Leeds, T. D. 2020. Transcriptomic response to selective breeding for fast growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Marine Biotechnology*, 22: 539–550. *Marine Biotechnology*.
- Clutton-Brock, T. H. 1988. Reproductive success: studies of individual variation in contrasting breeding systems. University of Chicago Press, Chicago.
- Connon, R. E., Jeffries, K. M., Komoroske, L. M., Todgham, A. E., and Fangue, N. A. 2018. The utility of transcriptomics in fish conservation. *Journal of Experimental Biology*, 221: 1–8.
- Craig, P. M., Wood, C. M., and McClelland, G. B. 2007. Oxidative stress response and gene expression with acute copper exposure in zebrafish (*Danio rerio*). *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 293: R1882–R1892.
- Crespel, A., Bernatchez, L., Garant, D., and Audet, C. 2013a. Genetically based population divergence in overwintering energy mobilization in brook charr (*Salvelinus fontinalis*). *Genetica*, 141: 51–64.
- Dar, S. A., Srivastava, P. P., Varghese, T., Gupta, S., Gireesh-Babu, P., and Krishna, G. 2018. Effects of starvation and refeeding on expression of ghrelin and leptin gene with

- variations in metabolic parameters in *Labeo rohita* fingerlings. *Aquaculture*, 484: 219–227.
- Davies, R., and Moyes, C. D. 2007. Allometric scaling in centrarchid fish: origins of intra- and inter-specific variation in oxidative and glycolytic enzyme levels in muscle. *The Journal of Experimental Biology*, 210: 3798–3804.
- Desrosiers, V., Le François, N. R., Tveiten, H., Andreassen, I., and Blier, P. U. 2008. Ontogenesis of catabolic and energy metabolism capacities during the embryonic development of spotted wolffish (*Anarhichas minor*). *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology*, 150: 200–206.
- Devlin, R. H., Sakhrani, D., Tymchuk, W. E., Rise, M. L., and Goh, B. 2009. Domestication and growth hormone transgenesis cause similar changes in gene expression in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106: 3047–3052.
- DFO. 2018a. Units 1 + 2 Redfish management strategy. DFO Can. Sci. Advis. Sec., Sci. Advis.
- DFO. 2018b. Assessment of Redfish stocks (*Sebastes mentella* and *S. fasciatus*) in units 1 and 2 in 2017. DFO Can. Sci. Advis. Sec., Sci. Advis.
- Duan, C., Ren, H., and Gao, S. 2010. Insulin-like growth factors (IGFs), IGF receptors, and IGF-binding proteins: Roles in skeletal muscle growth and differentiation. *General and Comparative Endocrinology*, 167: 344–351.
- Dumont, Y., Martel, J. C., Fournier, A., St-Pierre, S., and Quirion, R. 1992. Neuropeptide Y and neuropeptide Y receptor subtypes in the brain and peripheral tissues. *Progress in Neurobiology*, 38: 125–167.
- Dupont, J., and LeRoith, D. 2001. Insulin and insulin-like growth factor I receptors: similarities and differences in signal transduction. *Hormone Research*, 55: 22–26.

- Dyer, A. R., Barlow, C. G., Bransden, M. P., Carter, C. G., Glencross, B. D., Richardson, N., Thomas, P. M. 2004. Correlation of plasma IGF-I concentrations and growth rate in aquacultured finfish: A tool for assessing the potential of new diets. *Aquaculture*, 236: 583–592.
- Elias, C. F., Aschkenasi, C., Lee, C., Kelly, J., Ahima, R. S., Jeffrey, C. B., Flier, S. 1999. Leptin differentially regulates NPY and POMC neurons projecting to the lateral hypothalamic area. *Neuron*, 23: 775–786.
- Enes, P., Panserat, S., Kaushik, S., and Oliva-Teles, A. 2009. Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35: 519–539.
- Evans, D. H., Claiborne, J. B., and Currie, S. 2014. *The Physiology of Fishes*. CRC Press, Boca Raton, FL. 480 p.
- FAO. 2020. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020: Sustainability in Action*. Rome.
- Ferriss, B. E., Trudel, M., and Beckman, B. R. 2014. Regional and inter-annual trends in marine growth of juvenile salmon in coastal pelagic ecosystems of British Columbia, Canada. *Marine Ecology Progress Series*, 503: 247–261.
- Fleming, I. A., Agustsson, T., Finstad, B., Johnsson, J. I., and Björnsson, B. T. 2002. Effects of domestication on growth physiology and endocrinology of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59: 1323–1330.
- Forêts Faune et Parcs Québec. 2016. Omble de fontaine. Document en ligne: <https://mffp.gouv.qc.ca/faune/peche/poissons/omble-fontaine.jsp>.
- Foster, A. R., Houlihan, D. F., and Hall, S. J. 1993. Effects of nutritional regime on correlates of growth rate in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*); Comparison of morphological and biochemical measurements. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50: 502-512.

- Foust, C. M., Preite, V., Schrey, A. W., Alvarez, M., Robertson, M. H., Verhoeven, K. J. F., and Richards, C. L. 2016. Genetic and epigenetic differences associated with environmental gradients in replicate populations of two salt marsh perennials. *Molecular Ecology*, 25: 1639–1652.
- Franks, S. J., and Hoffmann, A. A. 2012. Genetics of climate change adaptation. *Annual Review of Genetics*, 46: 185–208.
- Fry, F. E. 1971. The effect of environmental factors on the physiology of fish. *Fish Physiology*, 6: 1–98.
- Fuentes, E. N., Antonio, J., Molina, A., Thrandur, B., Valdés, J. A., Molina, A., and Björnsson, B. T. 2013. Regulation of skeletal muscle growth in fish by the growth hormone – Insulin-like growth factor system. *General and Comparative Endocrinology*, 192: 136–148.
- Fukada, H., Ozaki, Y., Pierce, A. L., Adachi, S., Yamauchi, K., Hara, A., Swanson, P. 2004. Salmon growth hormone receptor: molecular cloning, ligand specificity, and response to fasting. *General and Comparative Endocrinology*, 139: 61–71.
- Fulton, T. W. 1904. The rate of growth of fishes. 22nd Annual Report of the Fishery Board of Scotland, 3: 141–241.
- Gabillard, J. C., Weil, C., Rescan, P. Y., Navarro, I., Gutiérrez, J., and Le Bail, P. Y. 2003. Effects of environmental temperature on IGF1, IGF2, and IGF type I receptor expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *General and Comparative Endocrinology*, 133: 233–242.
- Galbraith, P. S., Chassé, J., Caverhill, C., Nicot, P., Gilbert, D., Lefaivre, D., and Lafleur, C. 2019. Conditions océanographiques physiques dans le golfe du Saint-Laurent en 2018. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2019/046, 1: iv + 83 p.
- Ghinter, L., Lambert, Y., and Audet, C. 2021. Juvenile Greenland halibut (*Reinhardtius*

- hippoglossoides*) growth in the context of rising temperature in the Estuary and Gulf of St. Lawrence. *Fisheries Research*, 233: 1–10.
- Gjedrem, T. 2005. *Selection and Breeding Programs in Aquaculture*. Springer, Dordrecht. 364 p.
- Gjedrem, T., and Baranski, M. 2009. *Selection Breeding in Aquaculture: An Introduction*. Springer, London. 848 p.
- Gjerde, B., and Korsvoll, A. 1999. Realized selection differentials for growth rate and early sexual maturity in Atlantic salmon. *Aquaculture Europe* 99, August: 73–74.
- Glanemann, C., Loos, A., Gorret, N., Willis, L. B., O'Brien, X. M., Lessard, P. A., and Sinskey, A. J. 2003. Disparity between changes in mRNA abundance and enzyme activity in *Corynebacterium glutamicum*: implications for DNA microarray analysis. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61: 61–68.
- Gomez-Requeni, P., Calduch-giner, J., Vega-rubi, S., Médale, F., Kaushik, S. J., and Pérez-Sánchez, J. 2005. Regulation of the somatotrophic axis by dietary factors in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *British Journal of Nutrition*, 94: 353–361.
- Goolish, E. M. 1991. Aerobic and anaerobic scaling in fish. *Biological Reviews*, 66: 33–56.
- Hack, N. L., Strobel, J. S., Journey, M. L., Beckman, B. R., and Lema, S. C. 2018. Response of the insulin-like growth factor-1 (Igf1) system to nutritional status and growth rate variation in olive rock fish (*Sebastes serranoides*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 224: 42–52.
- Hack, N. L., Cordova, K. L., Glaser, F. L., Journey, M. L., Resner, E. J., Hardy, K. M., Beckman, B. R. 2019. Interactions of long-term food ration variation and short-term fasting on insulin-like growth factor-1 (IGF-1) pathways in copper rockfish (*Sebastes caurinus*). *General and Comparative Endocrinology*, 280: 168–184.
- Hamlin, H. J. 2014. Endocrine disruption. *In The Physiology of Fishes*, 4th edition, 480 p.

- Ed: D. H. Evans, J. B. Claiborne, and S. Currie. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Hartl, D. L., and Jones, E. 1998. *Genetics: Principles and Analysis*. Jones & Bartlett Publishers, Sudbury, Massachusetts. 1367 p.
- Herbinger, C. M., and Friars., G. W. 1991. Correlation between condition factor and total lipid content in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. parr. *Aquaculture and Fisheries Management*, 22: 527–529.
- Hessen, D. O., Jeyasingh, P. D., Neiman, M., and Weider, L. J. 2010. Genome streamlining and the elemental costs of growth. *Trends in Ecology and Evolution*, 25: 75–80.
- Hevrøy, E. M., Hunskaar, C., de Gelder, S., Shimizu, M., Waagbø, R., Breck, O., Takle, H. 2013. GH-IGF system regulation of attenuated muscle growth and lipolysis in Atlantic salmon reared at elevated sea temperatures. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 183: 243–259.
- Hevrøy, E. M., Tipsmark, C. K., Remø, S. C., Hansen, T., Fukuda, M., Torgersen, T., Vikeså, V. 2015. Role of the GH-IGF-1 system in Atlantic salmon and rainbow trout postsmolts at elevated water temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology -Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 188: 127–138.
- Higgins, R. M., Diogo, H., and Isidro, E. J. 2015. Modelling growth in fish with complex life histories. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 25: 449–462.
- Hoskins, L. J., and Volkoff, H. 2012. The comparative endocrinology of feeding in fish: Insights and challenges. *General and Comparative Endocrinology*, 176: 327–335.
- Ji, R., Jin, M., and Varpe, Ø. 2013. Sea ice phenology and timing of primary production pulses in the Arctic Ocean. *Global Change Biology*, 19: 734–741.
- Johansen, K. A., and Overturf, K. 2006. Alterations in expression of genes associated with muscle metabolism and growth during nutritional restriction and refeeding in rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular*

Biology, 144: 119–127.

Johnston, I. A., Bower, N. I., and Macqueen, D. J. 2011. Growth and the regulation of myotomal muscle mass in teleost fish. *Journal of Experimental Biology*, 214: 1617–1628.

Jonsson, E., and Holmgren, S. 2012. The endocrine system of the gut. *In Encyclopedia of Fish Physiology*, pp. 1341–1347. Ed: A. P. Farrell.

Jönsson, E. 2013. The role of ghrelin in energy balance regulation in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 187: 79–85.

Kaiya, H., Miyazato, M., Kangawa, K., Peter, R. E., and Unniappan, S. 2008. Ghrelin : A multifunctional hormone in non-mammalian vertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 149: 109–128.

Kalra, S. P., Dube, M. G., Pu, S., Xu, B. I. N., Horvath, T. L., and Kalra, P. S. 1999. Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocrine Reviews*, 20: 68–100.

Kause, A., Ritola, O., Paananen, T., Wahloos, H., and Mäntysaari, E. 2005. Genetic trends in growth, sexual maturity and skeletal deformations, and rate of inbreeding in a breeding programme for rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 247: 177–187.

Kawaguchi, K., Kaneko, N., Fukuda, M., Nakano, Y., Kimura, S., Hara, A., and Shimizu, M. 2013. Responses of insulin-like growth factor (IGF)-I and two IGF-binding protein-1 subtypes to fasting and re-feeding, and their relationships with individual growth rates in yearling masu salmon (*Oncorhynchus masou*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 165: 191–198.

Kilvitis., H. J., Álvarez, M., Foust, C. M., Schrey, A. W., Robertson, M., and Richards, C. L. 2014. Ecological Epigenetics. *In Ecological Genomics*, pp. 191-210. Springer,

Netherlands.

- Klok, M. D., Jakobsdottir, S., and Drent, M. L. 2007. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: A review. *Obesity Reviews*, 8: 21–34.
- Le François, N. R., Lamarre, S. G., and Blier, P. U. 2005. Is white muscle anaerobic glycolysis capacity indicative of competitive ability in Arctic charr? *Journal of Fish Biology*, 66: 1167–1176.
- Lefcheck, Jonathan S. (2016) piecewiseSEM: Piecewise structural equation modeling in R for ecology, evolution, and systematics. *Methods in Ecology and Evolution*. 7(5): 573–579. DOI: 10.1111/2041-210X.12512
- Legendre, P., Oksanen, J., and Tter Braak, C. J. F. 2011. Testing the significance of canonical axes in redundancy analysis. *Methods in Ecology and Evolution*, 2: 269–277.
- Levesque, H. M., Shears, M. A., Fletcher, G. L., and Moon, T. W. 2008. Myogenesis and muscle metabolism in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) made transgenic for growth hormone. *The Journal of Experimental Biology*, 211: 128–137.
- Little, A. G., Loughland, I., and Seebacher, F. 2020. What do warming waters mean for fish physiology and fisheries ? *Journal of Fish Biology*, 97: 328–340.
- Livak, K. J., and Schmittgen, T. D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2 ddCT. *Method*, 408: 402–408.
- Mathers, E. M., Houlihan, D. F., and Cunningham, M. J. 1992. Nucleic acid concentrations and enzyme activities as correlates of growth rate of the saithe *Pollachius virens*: growth-rate estimates of open-sea fish. *Marine Biology*, 112: 363–369.
- McCormick, S. D., R. J. Naiman, and Montgomery, E. T. 1985. Physiological smolt characteristics of anadromous and non-anadromous brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42: 529–538.

- Meier, K. M., Figueiredo, M. A., Kamimura, M. T., Laurino, J., Maggioni, R., Pinto, L. S., Dellagostin, O. A. 2009. Increased growth hormone (GH), growth hormone receptor (GHR), and insulin-like growth factor I (IGF-I) gene transcription after hyperosmotic stress in the Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35: 501–509.
- Mignon-Grasteau, S., Boissy, A., Bouix, J., Faure, J. M., Fisher, A. D., Hinch, G. N., Jensen, P. 2005. Genetics of adaptation and domestication in livestock. *Livestock Production Science*, 93: 3–14.
- Moyano, M., Illing, B., Polte, P., Kotterba, P., Zablotzki, Y., Gröhsler, T., and Peck, M. A. 2020. Linking individual physiological indicators to the productivity of fish populations: a case study of Atlantic herring. *Ecological Indicators*, 113: 106146.
- Moyes, C. D., and Genge, C. E. 2010. Scaling of muscle metabolic enzymes: An historical perspective. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 156: 344–350.
- MPO. 2011. Évaluation du potentiel de rétablissement du sébaste (*Sebastes fasciatus* et *S. mentella*) dans l'Atlantique Nord-Ouest. *Secr. can. de consult. sci. du MPO, Avis sci.*: 20.
- MPO. 2012. Points de référence pour le sébaste (*Sebastes mentella* et *Sebastes fasciatus*) dans l'Atlantique Nord-Ouest. *Secr. can. de consult. sci. du MPO, Avis sci.*
- Nakagawa, S., Johnson, P. C. D., and Schielzeth, H. 2017. The coefficient of determination R^2 and intra-class correlation coefficient from generalized linear mixed-effects models revisited and expanded. *Journal of the Royal Society Interface*, 14 : 1–11.
- Nakano, T., Afonso, L. O. B., Beckman, B. R., Iwama, G. K., and Devlin, R. H. 2013. Acute physiological stress down-regulates mRNA expressions of growth-related genes in coho salmon. *PLoS ONE*, 8: 1–7.

- Narum, S. R., and Campbell, N. R. 2015. Transcriptomic response to heat stress among ecologically divergent populations of redband trout. *BMC Genomics*, 16: 1–12.
- Nash, R. D. M., Valencia, A. H., Geffen, A. J., and Meek, A. 2006. The Origin of Fulton's Condition Factor — Setting the Record Straight. *Fisheries*, 31: 236–238.
- Nathanailides, C. 1996. Metabolic specialization of muscle during development in cold-water and warmwater fish species exposed to different thermal conditions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53: 2147–2155.
- Nelson, L. E., and Sheridan, M. A. 2005. Regulation of somatostatins and their receptors in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 142: 117–133.
- Nilsson, J. A. N. 1990. Heritability estimates of growth-related traits in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture*, 84: 211–217.
- Norbeck, L. A., Kittilson, J. V. D., and Sheridan, M. A. 2007. Resolving the growth-promoting and metabolic effects of growth hormone: Differential regulation of GH – IGF-I system components. *General and Comparative Endocrinology*, 151: 332–341.
- Nord, H., Burguiere, A.-C., Muck, J., Nord, C., Ahlgren, U., and von Hofsten, J. 2014. Differential regulation of myosin heavy chains defines new muscle domains in zebrafish. *Molecular Biology of the Cell*, 25: 1384–1395.
- Nordgarden, U., Fjellidal, P. G., Hansen, T., Björnsson, B. T., and Wargelius, A. 2006. Growth hormone and insulin-like growth factor-I act together and independently when regulating growth in vertebral and muscle tissue of atlantic salmon postsmolts. *General and Comparative Endocrinology*, 149: 253–260.
- O'Connor, C. M., and Adams, J. U. 2010. *Essentials of Cell Biology*. NPG Education, Cambridge, MA. 54 p.
- Overturf, K., and Hardy, R. W. 2001. Myosin expression levels in trout muscle: a new method for monitoring specific growth rates for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*

- (Walbaum) on varied planes of nutrition. *Aquaculture Research*, 32: 315–322.
- Pankova, M. V., Kukhlevsky, A. D., and Brykov, V. A. 2017. Fish growth hormone genes: Divergence of coding sequences in salmonid fishes. *Russian Journal of Genetics*, 53: 221–232.
- Pelletier, D., Guderley, H., and Dutil, J.-D. 1993a. Does the aerobic capacity of fish muscle change with growth rates? *Fish Physiology and Biochemistry*, 12: 83–93.
- Pelletier, D., Guderley, H., and Dutil, J.-D. 1993b. Effects of growth rate, temperature, season, and body size on glycolytic enzyme activities in the white muscle of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Journal of Experimental Zoology*, 265: 477–487.
- Pelletier, D., Blier, P. U., Dutil, J.-D., and Guderley, H. 1995. How should enzyme activities be used in fish growth studies? *Journal of Experimental Biology*, 198: 1493–1497.
- Peng, C., and Peter, R. E. 1997. Neuroendocrine regulation of growth hormone secretion and growth in fish. *Zoological Studies*, 36: 79–89.
- Penney, R. W., and Evans, G. T. 1985. Growth histories of larva *Sebastes*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42: 1452–1464.
- Peres-Neto, P. R., Legendre, P., Dray, S., and Borcard, D. 2006. Variation partitioning of species data matrices: Estimation and comparison of fractions. *Ecology*, 87: 2614–2625.
- Pérez-Sánchez, J., Calduch-Giner, J. A., Mingarro, M., Vega-Rubin de Celis, S., Gomez-Requeni, P., Saera-Vila, A., Astola, A. 2002. Overview of fish growth hormone family. New insights in genomic organization and heterogeneity of growth hormone receptors. *Fish Physiology and Biochemistry*, 27: 243–258.
- Pérez-Sánchez, J., Simó-Mirabet, P., Naya-Català, F., Martos-Sitcha, J. A., Perera, E., Bermejo-Nogales, A., Benedito-Palos, L. 2018. Somatotropic axis regulation unravels the differential effects of nutritional and environmental factors in growth performance of marine farmed fishes. *Frontiers in Endocrinology*, 9: 1–24.

- Perry, G. M. L., Audet, C., Laplatte, B., and Bernatchez, L. 2004. Shifting patterns in genetic control at the embryo-alevin boundary in brook charr. *Evolution*, 58: 2002–2012.
- Perry, G. M. L., King, T. L., St.-Cyr, J., Valcourt, M., and Bernatchez, L. 2005a. Isolation and cross-familial amplification of 41 microsatellites for the brook charr (*Salvelinus fontinalis*). *Molecular Ecology Notes*, 5: 346–351.
- Perry, G. M. L. L., Audet, C., and Bernatchez, L. 2005b. Maternal genetic effects on adaptive divergence between anadromous and resident brook charr during early life history. *Journal of Evolutionary Biology*, 18: 1348–1361.
- Picha, M. E., Silverstein, J. T., and Borski, R. J. 2006. Discordant regulation of hepatic IGF-I mRNA and circulating IGF-I during compensatory growth in a teleost, the hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). *General and Comparative Endocrinology*, 147: 196–205.
- Picha, M. E., Turano, M. J., Tipsmark, C. K., and Borski, R. J. 2008a. Regulation of endocrine and paracrine sources of Igfs and Gh receptor during compensatory growth in hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). *Journal of Endocrinology*, 199: 81–94.
- Picha, M. E., Turano, M. J., Beckman, B. R., and Borski, R. J. 2008b. Endocrine biomarkers of growth and applications to aquaculture : A minireview of growth hormone, insulin-like growth factor (IGF -I), and IGF-binding proteins as potential growth indicators in fish. *North American Journal of Aquaculture*, 70: 196–211.
- Pierce, A. L., Shimizu, M., Beckman, B. R., Baker, D. M., and Dickho, W. W. V. 2005. Time course of the GH / IGF axis response to fasting and increased ration in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *General and Comparative Endocrinology*, 140: 192–202.
- Raven, P. A., Uh, M., Sakhrani, D., Beckman, B. R., Cooper, K., Pinter, J., Leder, E. H. 2008. Endocrine effects of growth hormone overexpression in transgenic coho salmon. *General and Comparative Endocrinology*, 159: 26–37.

- Reindl, K. M., and Sheridan, M. A. 2012. Peripheral regulation of the growth hormone-insulin-like growth factor system in fish and other vertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 163: 231–245.
- Reinecke, M. 2010. Influences of the environment on the endocrine and paracrine fish growth hormone-insulin-like growth factor-I system. *Journal of Fish Biology*, 76: 1233–1254.
- Reinecke, M., Björnsson, B. T., Dickhoff, W. W., McCormick, S. D., Navarro, I., Power, D. M., and Gutiérrez, J. 2005. Growth hormone and insulin-like growth factors in fish: Where we are and where to go. *General and Comparative Endocrinology*, 142: 20–24.
- Saborido-Rey, F. 1994. El género *Sebastes* Cuvier, 1829 (Pisces, Scorpaenidae) en el Atlántico Norte: identificación de especies y poblaciones mediante métodos morfométricos; crecimiento y reproducción de las poblaciones en Flemish Cap. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid, España, 271 p.
- Saborido-Rey, F., Garabana, D., and Cerviño, S. 2004. Age and growth of redfish (*Sebastes marinus*, *S. mentella*, and *S. fasciatus*) on the Flemish Cap (Northwest Atlantic). *ICES Journal of Marine Science*, 61: 231–242.
- Saborido-Rey, F., and Kjesbu, O. S. 2005. Growth and maturation dynamics. Institute of Marine Research (CSIC). Vigo. Spain. 25 p.
- Salway, J. G. 2004. *Metabolism at a Glance*. Blackwell Publishing Ltd., Malden, MA.
- Sauvage, C., Derome, N., Normandeau, E., St.-Cyr, J., Audet, C., and Bernatchez, L. 2010. Fast transcriptional responses to domestication in the brook charr *Salvelinus fontinalis*. *Genetics*, 185: 105–112.
- Sauvage, C., Vagner, M., Derome, N., Audet, C., and Bernatchez, L. 2012. Coding gene SNP mapping reveals QTL linked to growth and stress response in brook charr (*Salvelinus fontinalis*). *G3-Genes Genomes Genetics*, 2: 707–720.
- Scott, W. B., and Scott, M. G. 1988. *Atlantic Fishes of Canada*. Canadian Bulletin of

Fisheries and Aquaculture Sciences, 219: 731.

- Senay, C., Ouellette-plante, J., Bourdages, H., Bermingham, T., Parent, G., Chabot, D., and Duplisea, D. 2021. Unit 1 Redfish (*Sebastes mentella* and *S. fasciatus*) stock status in 2019 and updated information on population structure, biology, ecology, and current fishery closures. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2021/015. xi + 119 p.
- Shahjahan, M., Kitahashi, T., and Parhar, I. S. 2014. Central pathways integrating metabolism and reproduction in teleosts. *Frontiers in Endocrinology*, 5: 1–17.
- Sheridan, M. A., and Hagemester, A. L. 2010. Somatostatin and somatostatin receptors in fish growth. *General and Comparative Endocrinology*, 167: 360–365.
- Silverstein, J. T., and Plisetskaya, E. M. 2000. The effects of NPY and insulin on food intake regulation in fish. *American Zoologist*, 40: 296–308.
- Skaara, T., and Regenstein, J. M. 1990. The structure and properties of myofibrillar proteins in beef, poultry, and fish. *Journal of Muscle Foods*, 1: 269–291.
- Somero, G. N., and Childress, J. J. 1980. A violation of the metabolism-size scaling paradigm: Activities of glycolytic enzymes in muscle increase in larger-size fish. *Physiological Zoology*, 53: 322–337.
- Song, M., Zhao, J., Wen, H. S., Li, Y., Li, J. F., Li, L. M., and Tao, Y. X. 2019. The impact of acute thermal stress on the metabolome of the black rockfish (*Sebastes schlegelii*). *PLoS ONE*, 14: 1–23.
- Stransky, C., Gudmundsdóttir, S., Sigurdsson, T., Lemvig, S., Nedreaas, K., and Saborido-Rey, F. 2005. Age determination and growth of Atlantic redfish (*Sebastes marinus* and *S. mentella*): Bias and precision of age readers and otolith preparation methods. *ICES Journal of Marine Science*, 62: 655–670.
- Strobel, J. S., Hack, N. L., Label, K. T., Cordova, K. L., Bersin, T. V., Journey, M. L., Beckman, B. R. 2020. Effects of food deprivation on plasma insulin-like growth factor-

- 1 (Igf1) and Igf binding protein (Igfbp) gene transcription in juvenile cabezon (*Scorpaenichthys marmoratus*). *General and Comparative Endocrinology*, 286: 113–119.
- Sullivan, K. M., and Somero, G. N. 1980. Enzyme activities of fish skeletal muscle and brain as influenced by depth of occurrence and habits of feeding and locomotion. *Marine Biology*, 60: 91–99.
- Sutton, S. G., Bult, T. P., and Haedrich, R. L. 2000. Relationships among fat weight, body weight, water weight, and condition factors in wild Atlantic salmon Parr. *Transactions of the American Fisheries Society*, 129: 527–538.
- Torres, J. J., and Somero, G. N. 1988. Metabolism, enzymic activities and cold adaptation in Antarctic mesopelagic fishes. *Marine Biology*, 98: 169–180.
- Torres, J. J., Grigsby, M. D., and Clarke, M. E. 2012. Aerobic and anaerobic metabolism in oxygen minimum layer fishes: the role of alcohol dehydrogenase. *Journal of Experimental Biology*, 215: 1905–1914.
- Tripathi, G., and Verma, P. 2004. Scaling effects on metabolism of a teleost. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*, 301: 718–726.
- Tymchuk, W., Sakhrani, D., and Devlin, R. 2009. Domestication causes large-scale effects on gene expression in rainbow trout: Analysis of muscle, liver and brain transcriptomes. *General and Comparative Endocrinology*, 164: 175–183.
- Unniappan, S., and Peter, R. E. 2005. Structure, distribution and physiological functions of ghrelin in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 140: 396–408.
- Vagner, M., and Santigosa, E. 2011. Characterization and modulation of gene expression and enzymatic activity of delta-6 desaturase in teleosts: A review. *Aquaculture*, 315: 131–143.

- Valente, L. M. P., Moutou, K. A., Conceição, L. E. C., Engrola, S., Fernandes, J. M. O., and Johnston, I. A. 2013. What determines growth potential and juvenile quality of farmed fish species? *Reviews in Aquaculture*, 5: 168–193.
- Valentin, A. E., Penin, X., Chanut, J. P., Power, D., and Sévigny, J. M. 2014. Combining microsatellites and geometric morphometrics for the study of redfish (*Sebastes* spp.) population structure in the Northwest Atlantic. *Fisheries Research*, 154: 102–119.
- Vandesompele, J., De Preter, K., Pattyn, F., Poppe, B., Van Roy, N., De Paepe, A., and Speleman, F. 2002. Accurate normalization of real-time RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biology*, 3: 1–13.
- Vélez, E. J., Lutfi, E., Azizi, S., Montserrat, N., Riera-Codina, M., Capilla, E., Navarro, I. 2016. Contribution of in vitro myocytes studies to understanding fish muscle physiology. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - B: Biochemistry and Molecular Biology*, 199: 67–73.
- Vélez, E. J., Lutfi, E., Azizi, S., Perelló, M., Salmerón, C., Riera-Codina, M., Ibarz, A. 2017. Understanding fish muscle growth regulation to optimize aquaculture production. *Aquaculture*, 467: 28–40.
- Vélez, E. J., Perelló, M., Azizi, S., Moya, A., Lutfi, E., Pérez-sánchez, J., Calduch-Giner, J. A. 2018. Recombinant bovine growth hormone (rBGH) enhances somatic growth by regulating the GH-IGF axis in fingerlings of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *General and Comparative Endocrinology*, 257: 192–202.
- Velki, M., Meyer-Alert, H., Seiler, T. B., and Hollert, H. 2017. Enzymatic activity and gene expression changes in zebrafish embryos and larvae exposed to pesticides diazinon and diuron. *Aquatic Toxicology*, 193: 187–200.
- Very, N. M., and Sheridan, M. A. 2007. Somatostatin inhibits insulin-like growth factor-I receptor expression in the gill of a teleost fish (*Oncorhynchus mykiss*). *FEBS Letters*,

581: 4773–4777.

Vetter, R. D., and Lynn, E. A. 1997. Bathymetric demography, enzyme activity patterns, and bioenergetics of deep-living scorpaenid fishes (genera *Sebastes* and *Sebastolobus*): Paradigms revisited. *Marine Ecology Progress Series*, 155: 173–188.

Volkoff, H. 2016. The neuroendocrine regulation of food intake in fish: A review of current knowledge. *Frontiers in Neuroscience*, 10: 1–31.

Volkoff, H., Xu, M., MacDonald, E., and Hoskins, L. 2009. Aspects of the hormonal regulation of appetite in fish with emphasis on goldfish, Atlantic cod and winter flounder: Notes on actions and responses to nutritional, environmental and reproductive changes. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 153: 8–12.

Volkoff, H., Hoskins, L. J., and Tuziak, S. M. 2010. Influence of intrinsic signals and environmental cues on the endocrine control of feeding in fish: Potential application in aquaculture. *General and Comparative Endocrinology*, 167: 352–359.

Walock, C.N., Bergan, H. E., and Sheridan, M. A. 2012. Nutritional state modulates growth hormone-stimulated insulin-like growth factor and hormone-sensitive lipase mRNA expression. *In* 10th International Congress on the Biology of Fishes, 138 p. Madison, WI.

Wang, B., Jia, J., Yang, G., Qin, J., Zhang, C., Zhang, Q., Sun, C. 2016. In vitro effects of somatostatin on the growth hormone-insulin-like growth factor axis in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). *General and Comparative Endocrinology*, 237: 1–9.

Weatherley, A. H. 1972. Growth and ecology of fish populations. Academic Press, London. 107 p.

Wechter, M. E., Beckman, B. R., Andrews, A. G., Beaudreau, A. H., and McPhee, M. V. 2017. Growth and condition of juvenile chum and pink salmon in the northeastern

- Bering Sea. Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 135: 145–155.
- Wilson, D. F., Harrison, D. K., and Vinogradov, A. 2014. Mitochondrial cytochrome c oxidase and control of energy metabolism: measurements in suspensions of isolated mitochondria. *Journal of Applied Physiology*, 117: 1424–1430.
- Won, E. T., and Borski, R. J. 2013. Endocrine regulation of compensatory growth in fish. *Frontiers in Endocrinology*, 4: 1–13.
- Won, E. T., Douros, J. D., Hurt, D. A., and Borski, R. J. 2016. Leptin stimulates hepatic growth hormone receptor and insulin-like growth factor gene expression in a teleost fish, the hybrid striped bass. *General and Comparative Endocrinology*, 229: 84–91.
- Wood, A. W., Duan, C., and Bern, H. A. 2005. Insulin-like growth factor signaling in fish. *International rReview of Cytology*, 243: 215–285.
- Yang, T. H., and Somero, G. N. 1996. Activity of lactate dehydrogenase but not its concentration of messenger RNA increases with body size in barred sand bass, *Paralabrax nebulifer* (Teleostei). *Biological Bulletin*, 191: 155–158.
- Zhang, G., Chu, W., Hu, S., Meng, T., Pan, L., Zhou, R., Liu, Z. 2011. Identification and Analysis of Muscle-Related Protein Isoforms Expressed in the White Muscle of the Mandarin Fish (*Siniperca chuatsi*). *Marine Biotechnology*, 13: 151–162.

ANNEXES

Annexe 1. Information on the primers used for sequencing targeted genes in *Sebastes mentella*. For each studied gene, we present the species of origin (and accession number) from which sequences were used to amplify *S. mentella* genes, the sequences of primers designed for sequencing, the PCR amplicon size (number of base pairs [bp]) of partial cDNAs, and the percentage of similarity obtained between the original sequence and the *S. mentella* sequence amplified. Abbreviations are as follows: *igf-1*: insulin like growth factor 1 (liver); *igf-1ra*: IGF-1 receptor (white muscle); *myo*: myosin heavy chain (white muscle); *pk*: pyruvate kinase (white muscle); *ldh-a*: lactate dehydrogenase (white muscle); *cox-1*: cytochrome oxidase (heart); *cs*: citrate synthase (heart); *ef-1a*: elongation factor 1 alpha; *18s*: 18s ribosomal; *b-actin*: beta actin.

Gene	Sequence used for primer design (accession no.)	primers (5'-3')	<i>S. mentella</i> amplicon size (bp)	<i>S. mentella</i> sequence similarity (%)
<i>igf-1</i>	<i>Sebastes serranoides</i> (MG366820.1)	F – TGTCTAGCGCTCTTTCCTTTC R – GGGCCATAGCCTGGTTTAC	177	99
<i>igf-1ra</i>	<i>Sebastes caurinus</i> (MH476252.1)	F – AACTACGCCCTGGTGATCTA R – CAGACGTTGTCACTCCTTT	113	98

<i>myo</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i> (DQ317302.2)	F – GAGGAAAGATGTGAGGGACTTATC R – CTCGCGCTTCTTGTTTCATTTTC	755	100
<i>pk</i>	<i>Rachycentron canadum</i> (KM262818.1)	F – TGGGCAGTAAGAAGGGAGTG R – CTTTGCCTTTCTCTCCCAGC	185	94
<i>ldh-a</i>	<i>Scorpaenichthys marmoratus</i> (AY583162.1)	F – GGTCCAGGTGAGAAGATTGGG R – ACTCCATGCATGCCCTGTC	121	98
<i>cox-1</i>	<i>Sebastes semicinctus</i> (KT307040.1)	F – CTCTTCCGGAGTAGAAGCGG R – ACAGCGGTAATTAGGACGGC	237	99
<i>cs</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i> (KF857304.1)	F – AAAGAGAGCAGCACTTCCCT R – GCGGTAGATCTTTGCAGCAA	229	100
<i>ef-1a</i>	<i>Sebastes schlegelii</i> (KF430623.1)	F – GTGAGTTTGAGGCTGGTATCTC R – GGCTTCTGTGGGATCAGTTT	813	99
<i>18s</i>	<i>Sebastes schlegelii</i> (KF430619.1)	F – CGCTCTCACGTTACTTGGATAA R – TCGGAACTACGACGGTATCT	842	100
<i>b-actin</i>	<i>Sebastes schlegelii</i> (JN226153.1)	F – ATCCCTGGAGAAGAGCTATGA R – GCGCTGAGTGTGTATGAGAA	507	99

Annexe 2. Principal component analysis (PCA) of the gene expression database (*igf-1*, *igf-1r*, *myo*, *cox*, *cs*, *pk*, *ldh*) associated with capture sites for deepwater redfish. Different colours represent different capture sites.

