







Université du Québec  
à Rimouski

**La composition en acides gras des mitochondries cardiaques  
dicte-t-elle la limite supérieure de tolérance thermique chez  
l'omble de fontaine**

Mémoire présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en biologie

en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)

PAR

© AMELIE ST-PIERRE

**Juin 2023**



**Composition du jury :**

**Gesche Winkler, présidente du jury, Université du Québec à Rimouski**

**Pierre Blier, directeur de recherche, Université du Québec à Rimouski**

**Samuel Fortin, examinateur externe, SCF Pharma**

Dépôt initial le 20 décembre 2022

Dépôt final le 25 juin 2023



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 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 ma grand-mère Isabelle St-  
Pierre. « Tu n'es plus là où tu étais, mais  
tu es partout là où je suis » - Victor  
Hugo



## REMERCIEMENTS

Merci à Pierre, mon directeur de recherche, de m'avoir fait découvrir le merveilleux monde du métabolisme pendant mon baccalauréat et de me donner l'opportunité d'explorer ce domaine lors de ma microthèse et de mon passage d'un an dans son laboratoire. Cette expérience a été très enrichissante pour moi puisqu'elle m'a permis d'apprendre plusieurs méthodes analytiques et de me donner un avant-goût de ce qu'est la recherche. Je me suis découvert un grand intérêt pour le travail de laboratoire et le développement de méthode. Pendant cette année, tu m'as redonné l'envie de poursuivre à la maîtrise et, par le fait même, de réaliser un objectif que je m'étais donné pendant mon adolescence. Tu es une personne inspirante et t'écouter discuter de science me donne toujours le goût d'en apprendre plus. Merci pour ta confiance, ta patience et tes conseils pendant ces quatre dernières années. Merci de m'avoir laissé m'épanouir dans ce projet. De bons lipides, des mitochondries et des poissons, ce mélange ne pouvait donner qu'un beau projet !

Merci à ma présidente de jury Gesche Winkler, mon membre externe Samuel Fortin et mon directeur de recherche Pierre Blier d'avoir pris le temps de lire et apprécier (je l'espère) le fruit de mes dernières années de travail. J'ai pris plaisir à lire vos commentaires. Ils m'ont permis de peaufiner mon œuvre.

Merci au CRSNG d'avoir financé ce projet.

Merci à Emmanuelle, ma chère collègue et amie, qui a été, avec moi, dans ce projet de recherche du début jusqu'à la fin. J'ai vraiment apprécié notre collaboration pour mettre en place ce projet. On a formé une équipe de feu. Il a été très agréable d'avoir une personne aussi formidable que toi pour travailler et avancer dans cette aventure.

Merci à Lupann et Véronique pour leur contribution en laboratoire pour les analyses lipidiques, les mesures de CTmax et l'échantillonnage des poissons. Merci à Felix de m'avoir

initié à la chromatographie à phase gazeuse et pour tous ces conseils concernant les analyses lipidiques. Merci à Tamara, experte de la pêche à la mouche, pour son aide pendant la capture des ombles sauvages.

Merci à la SÉPAQ de nous avoir permis de pêcher... oups je veux dire échantillonner des ombles de fontaine pour ce projet. Un grand merci au personnel qui nous a très bien accueillis et aidés sur le territoire.

Merci au personnel de l'UQAR pour leur aide et leur rapidité. Je nomme ici Jonathan et Steeven, pour leurs conseils et l'approvisionnement en matériel de laboratoire, Nathalie pour ses conseils sur le maintien de poissons vivants en bassin et Dany pour son aide précieuse avec les nombreuses commandes.

Merci à mes chers compatriotes du Blier-Lab. J'ai passé de très beaux moments avec vous que ce soit pour discuter de manipulations de laboratoire qui ne fonctionnent pas soit pour fêter les petits et grands exploits de chacun autour d'une bière. J'en garderai de bons souvenirs.

Merci à l'équipe de Iso-BioKem et SCF Pharma, Bertrand, Jean-Nicolas, Mathieu, Anthony, Felix, Kim et Samuel, qui m'ont accueilli pendant ma dernière année de maîtrise et donné l'opportunité de m'épanouir dans un domaine de travail que j'apprécie énormément. Merci pour votre confiance et votre support cette dernière année. J'ai hâte de continuer à apprendre avec vous et à développer mes capacités professionnelles. J'ai beaucoup de chance de pouvoir travailler avec une si belle équipe et des personnes exceptionnelles.

Merci à tous mes amis qui m'ont soutenu de loin ou de proche. Je nomme ma gang de la Gaspésie, de la Beauce, de Bellechasse et de Rimouski. Je vous remercie de votre compréhension lors de la rareté de ma disponibilité. Un grand merci particulier pour tous ceux et celles qui sont passés par ce parcours avant moi. Vos conseils ont été précieux.

Merci à mes petites panthères (Dodo, Pelu et Tigre) qui ont aussi vécu cette maîtrise avec moi, couchées près de mon bureau ou sur moi pendant la rédaction. Votre amour

inconditionnel m'a permis de me sentir moins seule durant les dures nuits de travail. Merci aussi à mon vieux bonhomme préféré à quatre pattes, Balto, qui, par son simple sourire, a illuminé ma vie.

Merci à mes Michelois préférés (Caro et Yohan) qui m'accueillent à la maison à tous les soirs avec de bons repas réconfortants qui me donnent le courage de continuer. Mon métabolisme n'aura jamais manqué de carburants, ça, c'est certain. Merci d'écouter mes histoires de laboratoire et de rédaction dans les bons et les mauvais moments. Merci de votre support et de votre présence. Merci aussi à cette chère Linda pour toute la délicieuse nourriture qui a comblé mon estomac et mon être et qui m'a permis de continuer à avancer.

Mais merci surtout à ma Micheloise préférée, amie de longue date et colloque depuis 4 ans, Caroline. Tu m'as supporté pendant ce parcours académique du début à la fin. Merci d'avoir été là. Ces dernières années n'auraient pas été les mêmes sans une amie exceptionnelle comme toi. Ta présence et ton humour ont été très réconfortants. Merci de m'avoir rendu le sourire plus d'une fois, et ce, parfois même sans que tu le saches.

J'aimerais remercier aussi ma grand-mère Isabelle St-Pierre qui depuis quelques années déjà me surveille d'en haut. Tu m'as transmis le désir d'apprendre et de m'intéresser à tout ce qui touche ma curiosité dès mon enfance. Tu as toujours été là pour m'encourager dans mes études et dans ce que je voulais faire. Sache que j'ai apprécié ton intérêt et ton support tout au long de mon parcours. J'espère que tu as pu voir tout ce que j'ai réalisé ces dernières années et que tu es fière de moi. Merci de continuer à veiller sur moi.



## RÉSUMÉ

Dans un contexte de changements globaux, il est important d'étudier les traits physiologiques et les fonctions métaboliques qui dictent la sensibilité thermique des ectothermes et qui expliquent la variabilité de limites supérieures de tolérance thermique observée entre espèces, populations ou individus. La composition en acides gras des phospholipides membranaires a la capacité de s'adapter en fonction des changements de température et est connue pour jouer un rôle dans la production d'ATP et la résistance au stress oxydant. L'objectif de cette étude est d'établir la relation entre le profil d'acides gras et la température critique maximale (exprimée en °C (CTmax) ou minutes (tCTmax)) chez l'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) afin de trouver d'éventuels traits physiologiques expliquant la variabilité de la tolérance thermique au sein de cette espèce. Nous voulions tester l'hypothèse selon laquelle la susceptibilité des membranes mitochondriales cardiaques à la peroxydation dicte les limites thermiques. Nous avons utilisé une population domestiquée et une sauvage. La CTmax de chaque poisson a été déterminée. Comme la robustesse des membranes mitochondriales du cœur au stress oxydant a été associée à la tolérance thermique chez les poissons, nous nous sommes concentrés sur le profil lipidique des mitochondries du cœur, mais nous avons également examiné ceux du cerveau, du plasma sanguin et des érythrocytes. Les profils d'acides gras ont été déterminés par chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme. Le ratio oméga-3/oméga-6, la teneur en oméga-6 et en acide arachidonique (ARA) dans les mitochondries cardiaques sont corrélés au tCTmax chez l'omble de fontaine domestique. Seul l'ARA était corrélé chez les ombles sauvages dans le même tissu et chez les ombles domestiques dans le plasma sanguin. Les poissons avec une tCTmax plus élevée étaient associés à un ratio oméga-3/oméga-6 plus élevé et à une teneur plus faible en oméga-6 et en ARA. Ces découvertes peuvent expliquer en partie la variabilité de la tolérance thermique au sein de cette espèce. Cependant, ils ne peuvent pas expliquer la différence de tCTmax observée entre les deux populations étudiées. D'autres mécanismes et traits physiologiques doivent intervenir pour expliquer ces différences.

Mots clés : CTmax, mitochondrie, cœur, stress oxydant, peroxydation des lipides, acide arachidonique, ratio oméga-3/oméga-6





## ABSTRACT

In the context of global changes, it is urgent to explore physiological traits and metabolic functions that may dictate thermal sensibility of ectotherms, and explain the variability of upper thermal limits (expressed in °C (CTmax) or minutes (tCTmax)) observed between species, populations or individuals. Fatty acid profiles in membrane phospholipids have the capacity to adapt according to temperature changes and are known to play a role in ATP production and resistance against oxidative stress. The purpose of this research is to find a relationship between fatty acid profiles and CTmax in brook charr (*Salvelinus fontinalis*) to prospect for possible physiological traits explaining the thermal tolerance variability within this species. We wanted to test the hypothesis that the susceptibility of cardiac mitochondrial membranes to peroxidation dictates the thermal limits. We used a domesticated and a wild population. CTmax of each fish was determined through a temperature challenge test. As the robustness of the heart's mitochondrial membrane to oxidative stress has been associated with the thermal tolerance, we decided to focus on heart mitochondria lipid profiles, but we also looked at those of the brain, blood plasma and erythrocytes. Fatty acids profiles were determined by gas chromatography. N-3/n-6 ratio, omega-6 content and arachidonic acid (ARA) are linked to tCTmax in heart mitochondria of farmed brook charr. Only ARA is correlated in wild fish in the same tissue and in blood plasma of farmed fish in blood plasma. Fish with higher tCTmax were associated with higher n-3/n-6 ratio and lower omega-6 and ARA content. These findings can partly explain the divergences of thermal tolerance within this species. However, they cannot explain the tCTmax observed between the two studied populations. Other mechanisms and physiological traits must be involved to explain these differences.

*Keywords:* CTmax, mitochondria, heart, oxidative stress, lipid peroxidation, arachidonic acid, omega-3/omega-6 ratio



## TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	ix
RÉSUMÉ.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
TABLE DES MATIÈRES.....	xvii
LISTE DES TABLEAUX.....	xix
LISTE DES FIGURES.....	xxi
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES.....	xxiii
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE 1 La composition en acides gras des mitochondries cardiaques dicte-t-elle la limite supérieure de tolérance thermique chez l'omble de fontaine ?.....	29
1.1 RESUME EN FRANÇAIS DU PREMIER ARTICLE.....	29
1.2 DOES FATTY ACID PROFILE OF HEART MITOCHONDRIA DICTATE THERMAL SENSIBILITY OF BROOK CHARR?.....	31
1.3 ABSTRACT.....	31
1.4 INTRODUCTION.....	32
1.5 MATERIALS AND METHODS.....	36
1.5.1 Fish.....	36
1.5.2 Conditions before the experiments.....	36
1.5.3 Temperature challenge test (TCT).....	37
1.5.4 Sampling.....	38
1.5.5 Tissue harvest.....	38
1.5.6 Mitochondrial isolation.....	39
1.5.7 Fatty acid transmethylation.....	39
1.5.8 Gas chromatography conditions.....	40
1.5.9 Statistical analysis.....	40
1.6 RESULTS.....	41

1.6.1 Fatty acid profiles in association with thermal tolerance in farmed and wild brook charr. ....	41
1.6.2 Fatty acids profiles of farmed and wild brook charr. ....	44
1.7 DISCUSSION.....	48
1.7.1 Fatty acids profiles and thermal tolerance in brook charr.....	48
1.7.2 Heart mitochondria involved in thermal tolerance .....	50
1.7.3 Arachidonic acid and thermal tolerance .....	51
1.7.4 n-3/n-6 ratio and stress resistance .....	54
1.7.5 Fatty acids profiles of farmed and wild brook charr.....	54
1.7.6 Conclusion .....	56
CONCLUSION GÉNÉRALE .....	57
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	65

## LISTE DES TABLEAUX

Table 1. Comparison of fatty acids profile of farmed and wild brook charr of the two TCT in heart mitochondria. Values are expressed as percentage of total fatty acid methyl esters (%).....	45
Table 2. Comparison of fatty acids profile of farmed and wild brook charr of the two TCT in heart cell debris, brain mitochondria and cell debris, blood plasma and erythrocytes. Values are expressed as percentage of total fatty acid methyl esters (%).....	46



## LISTE DES FIGURES

Figure 1. Représentation graphique de l'homéostasie (Davies, 2016).....	5
Figure 2. Phosphorylation oxydative et génération de ROS sur la membrane interne de la mitochondrie (Li et al., 2013).....	7
Figure 3. État de la membrane en fonction de la température et fluidité de la membrane selon la composition en acides gras des phospholipides (Moyes & Schulte, 2014) .....	16
Figure 4. Processus de peroxydation des lipides (Filipowska et al., 2021) .....	19
Figure 5. Plan expérimental de l'étude .....	28
Figure 6. Thermal tolerance (tCTmax) is partly explained by fatty acid profile in heart mitochondria of farmed (full circles) and wild (empty circles) brook charrs. Probability values are from simple linear regressions with the following equation: tCTmax (min) = 6.44x + 216.36 and tCTmax (min) = 1.22x + 250.21 for n-3/n-6 ratio; tCTmax (min) = -4.871x + 288.93 and tCTmax (min) = 0.376x + 249.99 for total n-6 content; tCTmax (min) = -7.42 x + 281.09 and tCTmax (min) = -4.39 x + 284.07 for ARA from farmed and wild brook charr respectively. Values of fatty acids are expressed as percentage of total fatty acid methyl esters (%).....	43
Figure 7. Thermal tolerance (tCTmax) is partly explained by fatty acid profile in blood plasma of farmed (full circles) and wild (empty circles) brook charrs. Probability values are from simple linear regression with the following equation: tCTmax (min) = -12.79 x + 304.3 and tCTmax (min) = -2.59 x + 273.33 for farmed and wild brook charr respectively. Values of fatty acids are expressed as percentage of total fatty acid methyl esters (%).....	43
Figure 8. Schéma récapitulatif des principaux résultats obtenus lors de l'étude.....	58





## LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

<b>4-HNE</b>	4-hydroxy-2-nonenal
<b>ADP</b>	Adénosine diphosphate
<b>ANOVA</b>	Analysis de la variance
<b>ARA</b>	Acide arachidonique
<b>ATP</b>	Adénosine triphosphate
<b>CCO</b>	Cytochrome c oxydase
<b>CTmax</b>	Température critique maximale
<b>DHA</b>	Acide docosahexaénoïque
<b>DPA</b>	Acide docosapentaénoïque
<b>EPA</b>	Acide eicosapentaénoïque
<b>ETS</b>	Système de transport des électrons
<b>FAME</b>	Méthyl ester d'acide gras
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>MUFA</b>	Acide gras monoinsaturé
<b>PI</b>	Indice de peroxydation
<b>PUFA</b>	Acide gras polyinsaturé
<b>SEM</b>	Erreur standard de la moyenne

**SFA** Acide gras saturé

**Ratio PE/PC** Ratio phosphatidyléthanolamines sur phosphatidylcholines

**ROS** Dérivé réactif de l'oxygène

**TCT** Test de tolérance thermique

**tCTmax** Temps de rétention dans le test de tolérance thermique

**UI** Indice d'insaturation

## INTRODUCTION GÉNÉRALE

### Température et ectothermes

L'environnement thermique des organismes aquatiques n'est généralement pas stable et ils doivent donc faire face à des changements journaliers et saisonniers qui affichent de plus en plus des écarts importants. Un réchauffement climatique de la planète entraîne ainsi non seulement des modifications des températures moyennes rencontrées, mais une augmentation de la fréquence et de l'amplitude des écarts de températures et des événements extrêmes. D'ici 2100, l'augmentation de la température de l'air et des océans prévue (Stocker, 2014), ainsi que l'apparition de vagues de chaleurs plus intenses, longues et fréquentes risquent donc de grandement perturber les écosystèmes (Hofmann & Todgham, 2010). La survie des espèces ne pourra pas simplement dépendre de leur capacité à survivre et à tolérer ce changement, mais également à exécuter des activités comme la croissance, le développement et la reproduction (Pörtner et al., 2001; Pörtner & Knust, 2007; Madeira et al., 2016a; Madeira et al. 2016b). Par exemple, les processus biologiques ainsi que la santé des poissons sont fortement affectés par l'exposition plus fréquente à des températures proches de leur maximum de tolérance thermique. Ces expositions sont connues pour avoir à long terme des conséquences néfastes sur la fraie, le taux de survie et le succès de recrutement (Chowdhury & Saikia, 2020; Hemmer-Brepson et al., 2014; Jeffries et al., 2014). De plus, le stress thermique peut augmenter la susceptibilité aux maladies chez ce groupe (Ahmad et al., 2011).

Plusieurs réponses de la dynamique des populations face aux changements climatiques ont été prédites : effondrements ou extinctions locales de populations (Pörtner & Knust, 2007), perturbation des migrations à grande échelle (Farrell et al., 2008), modification de la saisonnalité d'événements biologiques (Pankhurst & Munday, 2011; Bronson, 2009) et changements dans la disponibilité de la nourriture et la structure du réseau trophique

(Wiltshire & Manly, 2004). Des modifications dans la distribution géographique latitudinale des espèces et des populations sont aussi prédites puisque la température est un facteur influençant grandement la répartition des organismes (Perry et al., 2005; Brander et al., 2003).

Les différentes espèces et populations devront s'ajuster à ces changements de température par la plasticité physiologique et phénotypique, l'adaptation génétique au fil des générations ou la dispersion vers des habitats thermiques plus convenables (Somero, 2010; Hofmann & Todgham, 2010; Davis et al., 2005). La plasticité phénotypique et la recherche de refuges thermiques sont critiqueusement importantes à court et moyen terme pour assurer temporairement leur survie et pour fuir les températures extrêmes (Schulte, 2014).

Une hypothèse proposée au cours des deux dernières décennies (*oxygen- and capacity-limited thermal tolerance concept*) affirme qu'un organisme approchant sa limite de tolérance thermique, n'est plus apte à répondre à la demande en oxygène élevée des tissus et des cellules. Cela crée un déséquilibre entre la demande et l'offre en oxygène qui peut mener à une diminution de la performance physiologique de l'animal. À température élevée, la disponibilité de l'oxygène deviendrait limitante pour les organismes, entre autres à cause de sa solubilité plus faible et ce, même si le taux de diffusion de l'oxygène augmente (Verberk et al., 2011). Les organismes vont donc rechercher des niches thermiques plus convenables où ils n'auront pas cette limitation de l'apport en oxygène. Cette hypothèse permettrait d'expliquer, en partie, la distribution géographique et la tolérance thermique des ectothermes aquatiques en contexte de réchauffement climatique (Pörtner et al., 2017; Pörtner & Knust, 2007; Pörtner, 2001). D'autres découvertes nous permettent maintenant de réaliser que la disponibilité en oxygène n'est pas la seule explication possible pour expliquer la tolérance thermique des êtres vivants et que bien d'autres pistes semblent prometteuses.

## **Détermination des limites de tolérance thermique**

La tolérance thermique résulte de traits physiologiques fortement influencés par la génétique (Perry et al., 2001). Plusieurs études ont montré que la tolérance thermique peut être modulée par des facteurs environnementaux comme la période de la journée (Healy & Schulte, 2012), les saisons (Hu & Appel, 2004), l'alimentation (Nyamukondiwa & Terblanche, 2009) et l'état de santé (Padfield et al., 2020; Greenspan et al., 2017). Ces traits physiologiques, responsables des limites minimales et maximales de tolérance thermique, ont été liés à une acclimatation du métabolisme énergétique et du système de défense antioxydant (Fangue et al., 2009; Madeira et al., 2016a; Blier et al., 2014).

La température influence grandement le métabolisme des êtres vivants, principalement parce qu'elle agit sur la vitesse des processus physiologiques (Guderley & Johnston, 1996), ainsi que la cinétique enzymatique (Rao & Bullock, 1954). Chez les ectothermes aquatiques, le métabolisme mitochondrial est très dépendant de la température environnementale (Blier & Guderley, 1993; Guderley & Johnston, 1996), ce qui fait de la mitochondrie un acteur important dans l'établissement des limites de tolérance thermique. L'efficacité de la phosphorylation oxydative à produire de l'énergie pourrait limiter la survie des individus à haute température, tel qu'observé chez un poisson antarctique, *Lepidonotothen nudifrons* (Hardewig et al., 1999).

## **Homéostasie et allostasie**

Les ectothermes sont par définition très affectés par la température extérieure et possèdent peu de contrôle sur la régulation de leur température corporelle. Leur capacité de s'adapter à des fluctuations de la température environnementale va dépendre de la modification de leurs processus biochimiques et métaboliques qui assurent le maintien de leur homéostasie (Iftikar & Hickey, 2013). Le concept d'environnement corporel intérieur constant a été pour la première fois décrite par le physiologiste français Claude Bernard (Bernard, 1957) et repris, plus tard, par le physiologiste Walter Bradford Cannon comme

étant une condition du corps qui peut varier, mais qui est relativement stable (Cannon, 1939). C'est ce dernier qui a nommé ce concept « homéostasie ». Dans les domaines de la physiologie, il est aujourd'hui défini comme étant la capacité d'un organisme à maintenir son environnement interne constant dans un intervalle, autour d'une valeur donnée malgré les changements de son environnement extérieur, au moyen de processus de régulations actifs (Moyes and Schulte, 2014). La figure 1 permet de bien visualiser le concept d'homéostasie (Davies, 2016). L'axe des y représente une fonction biologique ou physiologique quelconque (ex. rythme cardiaque, température corporelle, activité des enzymes antioxydante, etc.) et l'axe des x, le temps. Par exemple, un organisme endotherme exposé à des températures très froides peut se mettre à frissonner. Ce mécanisme de réchauffement va lui permettre de maintenir sa température corporelle à un niveau acceptable. Au contraire, s'il a trop chaud, la sudation va lui permettre de réguler sa température. Ces mécanismes permettent de maintenir la température autour d'une valeur désirable sans que celle-ci soit fixe comme le montre la figure par les oscillations bleues. Davies (2016) a souligné le fait que l'homéostasie est adaptative, et que l'intervalle normal homéostatique peut varier lorsque l'organisme est exposé à des variations environnementales non dommageables (en jaune sur la figure 1). Par exemple, le stress thermique et mécanique, l'exercice, la privation de nourriture et les toxines chimiques sont tous des éléments qui peuvent modifier l'intervalle normal homéostatique (Davies, 2016). La survie des organismes implique de faire face à des niveaux fluctuants de stress internes et environnementaux. Un concept proche de l'homéostasie est l'allostasie. Au contraire de l'homéostasie qui réfère à la capacité d'un tissu ou d'une cellule à maintenir un état physiologique constant, l'allostasie est la capacité à changer son état ou son équilibrer physiologique, selon les conditions environnementales (McEwen & Wingfield, 2003). Ce concept s'applique très bien aux êtres ectothermes qui subissent des changements saisonniers de température. Leur état physiologique va changer pour s'acclimater à l'augmentation et la diminution de la température pour permettre la survie de l'organisme.

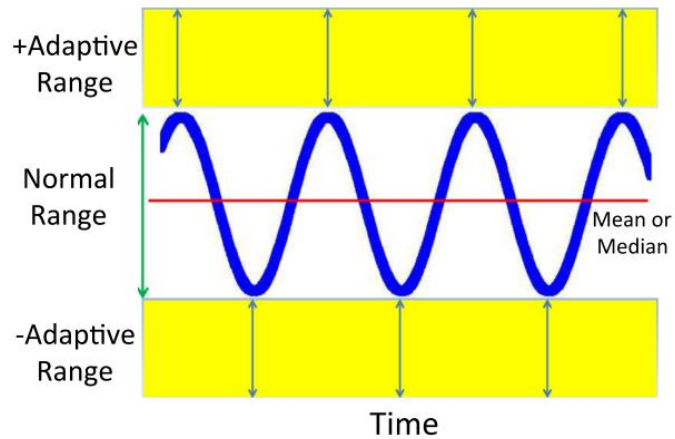


Figure 1. Représentation graphique de l'homéostasie (Davies, 2016)

### **Température critique maximale**

La détermination de la température critique maximale (CTmax) utilise une approche expérimentale valide depuis quelques décennies dans les études écophysologiques des poïkilothermes (Lutterschmidt & Hutchison, 1997). Elle permet d'estimer la limite supérieure de tolérance thermique en augmentant la température à partir d'une température d'acclimatation déterminée. La température est progressivement augmentée à une vitesse constante de façon à minimiser la différence entre la température extérieure et la température interne de l'organisme (Becker & Genoway, 1979). Une augmentation trop lente de la température permettrait à l'organisme de s'acclimater et donnerait potentiellement une donnée erronée de CTmax. Il est préférable d'utiliser des organismes de même taille principalement parce que la température interne ne se stabilise pas à la même vitesse chez des organismes de petite ou de grande taille (Kubb et al., 1980; Spigarelli et al., 1974). La CTmax est atteinte chez le poisson lorsqu'il n'est plus en mesure de fuir des conditions qui le mèneront éventuellement à sa mort. Cette situation se traduit par une incapacité à maintenir son orientation dorso-ventrale (Becker & Genoway, 1979). Cette méthode n'est pas létale et les poissons ont en général une bonne capacité de récupération. Il est donc possible de mesurer d'autres paramètres physiologiques sur les mêmes individus afin de rechercher les

déterminants de cette tolérance thermique. Cette méthode est répétable chez les mêmes individus dans les mêmes conditions (données non publiées; Morgan et al., 2018). La CT<sub>max</sub> n'est toutefois pas une mesure fixe. Elle est fortement influencée par la température d'acclimatation. Par exemple, une diminution de la température d'acclimatation chez le choquemort (*Fundulus heteroclitus*) a entraîné une baisse du CT<sub>max</sub> et vice-versa (Healy & Schulte, 2012).

### **Mitochondrie**

La mitochondrie, qui est un organite présent chez presque tous les Eucaryotes, joue un rôle fondamental dans le fonctionnement et le dysfonctionnement cellulaire. Elle participe au métabolisme énergétique de la cellule incluant d'importantes voies métaboliques (ex.  $\beta$ -oxydation des acides gras, pyruvate déshydrogénase, cycle de Krebs, phosphorylation oxydative) ainsi qu'aux processus de croissance, de différenciation et de mort cellulaire. La mitochondrie est donc une machine à fournir de l'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP). Cette énergie est alors distribuée dans la cellule afin d'être utilisée pour les réactions chimiques du métabolisme, les transports actifs à travers les membranes, la locomotion, etc. L'ATP est générée par un processus appelé phosphorylation oxydative qui permet la phosphorylation de l'adénosine diphosphate (ADP) en ATP. Ce processus est assuré par cinq complexes enzymatiques situés sur la membrane interne de la mitochondrie. Le NADH et le FADH<sub>2</sub> réduits grâce à l'oxydation des glucides, des lipides et des protéines sont oxydés aux complexes I (NADH déshydrogénase) et II (succinate déshydrogénase), permettant à leurs électrons d'alimenter le système de transport des électrons (ETS) (ensemble de cinq complexes). Les électrons seront acheminés au complexe III (cytochrome c réductase) par une coenzyme Q et, par la suite, au complexe IV (cytochrome c oxydase) par le cytochrome c. L'oxygène (O<sub>2</sub>) est un réactif essentiel à la respiration mitochondriale puisqu'il est requis au complexe IV, à la fin du ETS, comme accepteur final des électrons, formant ainsi une molécule d'eau. Le transfert de ces électrons d'un complexe à l'autre libère de l'énergie qui est utilisée par les complexes I, III et IV pour pomper des protons (H<sup>+</sup>) de la



matrice vers l'espace intermembranaire de la mitochondrie. Ce gradient de protons fournit l'énergie nécessaire au complexe V (ATP synthase) pour convertir l'ADP en ATP. La structure de la mitochondrie affectera sa capacité à produire de l'énergie et variera d'un type de cellule à l'autre selon sa demande énergétique. Par exemple, l'augmentation du nombre de crêtes à l'intérieur de la mitochondrie accroît la surface de la membrane interne ce qui permet un plus grand nombre de complexes de la respiration mitochondriale et de transports actifs pour les espèces chimiques (Chinnery & Schon, 2003; Osellame et al., 2012; Nicholls & Ferguson, 2001).

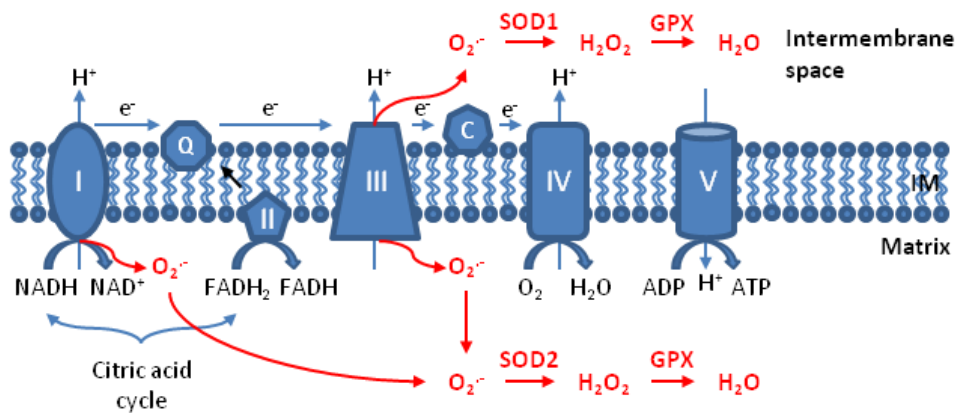


Figure 2. Phosphorylation oxydative et génération de ROS sur la membrane interne de la mitochondrie (Li et al., 2013)

### Stress oxydant

En plus de son incapacité à fournir de l'ATP à haute température, la mitochondrie, lors du processus de phosphorylation oxydative, est aussi une des sources de production de molécules nocives que l'on appelle des dérivés réactifs de l'oxygène (ROS). Elle est responsable d'au moins 90 % des ROS générés dans la cellule (Boveris & Chance, 1973; Halliwell & Gutteridge, 2015). Les ROS sont le résultat des électrons qui fuient du ETS et qui se dirigent directement vers l'oxygène moléculaire présent dans la matrice mitochondriale au lieu de passer par le complexe IV pour créer une molécule d'eau (figure

2). Les électrons fuient au niveau du complexe I et III et vont réduire partiellement l'oxygène moléculaire pour former des superoxydes ( $O_2^{\cdot-}$ ) (Li et al., 2013). Approximativement, entre 0,2 et 2 % de l'oxygène consommé par les mitochondries génèreraient des superoxydes (Chance et al., 1979; Staniek & Nohl, 1999). Ces molécules sont hautement toxiques pour la cellule et extrêmement réactives avec les macromolécules (Osellame et al., 2012). Ces ROS, lorsque produits en quantité excessive, peuvent engendrer des dommages aux lipides, aux protéines et à l'ADN à proximité et auront des effets délétères sur le bon fonctionnement des mitochondries (Zuo et al., 2015). Les ROS n'apportent pas que des effets négatifs. En faible quantité, ils ont un rôle important comme molécules de signalisation et sont impliqués dans la réponse cellulaire au stress (Li et al., 2013). Par exemple, ils ont été observés comme acteur important dans l'adaptation métabolique à l'hypoxie chez les cellules de mammifères (Tello et al., 2011). Ils modulent la prolifération cellulaire et la voie d'apoptose afin de bien réguler le cycle cellulaire et influencent aussi l'expression de certaines protéines de stress et le niveau d'antioxydant (Zuo et al., 2015; Patel et al., 2018).

Les cellules disposent de mécanismes antioxydants pour gérer la quantité de ROS produite et éviter une production excessive. Des enzymes antioxydantes se retrouvent de part et d'autre de la membrane interne de la mitochondrie afin de capter les superoxydes aussitôt que ceux-ci sont générés. Les superoxydes sont pris en charge par une première enzyme, la superoxyde dismutase, qui les transforme en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Les  $H_2O_2$  sont aussi considérées comme des ROS avec les superoxydes. Elles sont réduites en eau par deux autres enzymes, la catalase et la glutathion peroxydase. En plus de ces enzymes, ils existent également de nombreux moyens pour la cellule de gérer les ROS qu'ils soient de sources endogènes comme les familles de peroxyrédoxines et thiorédoxines ou exogènes comme la vitamine E (Madamanchi & Runge, 2007; Handy & Loscalzo, 2012; Li et al., 2013).

Le stress oxydant se manifeste lorsque la production de ROS devient trop importante, à un point où l'effet tampon des agents antioxydants ne suffit pas à prévenir les dommages occasionnés par les ROS. On peut donc décrire le stress oxydant comme un déséquilibre entre une production de ROS trop élevée et une gestion inadéquate de ceux-ci par le système de

défense antioxydant de la cellule. Le stress oxydant est reconnu pour être impliqué dans de nombreuses pathologies chez l'humain comme l'athérosclérose, le diabète, les maladies neurodégénératives et le cancer (Morissy & Chen, 2010; Li et al., 2013), ainsi que dans le processus de vieillissement chez les mammifères (Kujoth et al., 2005; Golden et al., 2002), les oiseaux (Montgomery et al., 2012), les poissons (Gerhard, 2007; Lucas-Sánchez et al., 2014; Hsu & Chiu, 2009) et les bivalves (Ungvari et al., 2012; Blier et al., 2017). L'apparition du stress oxydant a été reliée à plusieurs stress environnementaux (ex. hypoxie, métaux lourds, température élevée, etc.) (Banh et al., 2016; Birnie-Gauvin et al., 2017) et au développement de plusieurs pathologies chez différentes espèces animales (Chowdhury & Saikia, 2020; Kelly et al., 1998; Puppel et al., 2015; Reckelhoff et al., 2019). Il a été suggéré par Blier (2014) que les marqueurs de stress oxydant pourraient être un outil très utile pour évaluer l'état de santé métabolique et général chez les poissons.

Le stress oxydant peut affecter les poissons en perturbant plusieurs processus biologiques comme la fraie, le taux de mortalité, le succès de recrutement et le développement (Chowdhury & Saikia, 2020). Chez le médaka (*Oryzias latipes*), une reproduction hâtive et une diminution de la qualité de la progéniture ont été observées pour permettre l'allocation d'énergie vers les défenses antioxydantes lorsque ceux-ci sont exposés à des températures chaudes, augmentant ainsi le stress oxydant (Hemmer-Brepson et al., 2014).

### **Dysfonctionnement mitochondrial et tolérance thermique**

Lors d'un stress thermique, la capacité de la mitochondrie à produire de l'énergie ainsi que la gestion des dommages oxydatifs produits par une trop grande production de ROS altèrent le bon fonctionnement de la cellule. À température élevée, la consommation en oxygène augmente chez les poissons. Une hausse de la consommation en oxygène accroît linéairement la production de ROS par la mitochondrie (Turrens et al., 1982). En effet, l'exposition à des températures proche du CTmax est associée à une augmentation du stress

oxydant chez plusieurs espèces de poissons (Christen et al., 2018; Madeira et al., 2013; Vinagre et al., 2012). Madeira et ses collègues (2016a) ont montré une augmentation du stress oxydant dans plusieurs tissus, particulièrement dans le muscle et le foie, avec l'augmentation de la température jusqu'au CTmax chez la dorade royale (*Sparus aurata*). Cette augmentation du stress oxydant s'est traduite par une augmentation de la peroxydation des lipides et de l'activité des enzymes antioxydantes. Chez le bivalve *Mya arenaria*, les mitochondries deviennent moins efficaces à produire de l'ATP lorsqu'elles sont exposées à de hautes températures puisqu'elles produisent davantage de ROS (Abele et al., 2002). Chez l'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*), la consommation d'oxygène dans les mitochondries cardiaques augmente à l'approche du CTmax (20 °C) et cette valeur plafonne à l'atteinte du CTmax (23 °C). En parallèle, la production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a drastiquement augmenté à l'atteinte du CTmax alors qu'elle était plutôt faible et stable en bas de 20 °C (Christen et al., 2018). Ces résultats indiquent une insuffisance des défenses antioxydantes à gérer la production élevée en ROS. Cette augmentation de ROS avec la température a été aussi observée chez les mitochondries du muscle rouge de trois espèces de poissons : la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), la carpe commune (*Cyprinus carpio*) et l'esturgeon jaune (*Acipenser fulvescens*) (Banh et al., 2016). Ces études viennent supporter l'idée que les fonctions mitochondriales sont fortement compromises à température proche ou au CTmax.

### **Importance du cœur et de ses mitochondries dans la tolérance thermique**

Les mitochondries du cœur sont adaptées à la demande énergétique élevée de cet organe. Elles occupent entre 20 et 40 % du volume des cardiomyocytes chez les vertébrés (Hochachka, 1994). Le cœur est un muscle hautement énergivore et ses mitochondries fournissent 90 % de l'ATP nécessaire à sa contractilité et au fonctionnement de ses pompes ioniques (Hochachka, 1994). Il est donc très dépendant de la capacité et de l'efficacité mitochondriales à produire de l'ATP. Le cœur est particulièrement sensible à la température (Farrell, 1997). Certains chercheurs ont suggéré qu'il serait le premier organe, chez les ectothermes aquatiques, à arrêter de fonctionner lorsque la température s'approche de la

limite maximale de tolérance thermique. L'arrêt ou l'atténuation des fonctions cardiaques serait donc potentiellement responsable de la mort par stress thermique aigu et déterminerait les limites de tolérance thermique (Somero, 2010). À haute température, les mitochondries du cœur deviennent dysfonctionnelles et n'arrivent plus à produire adéquatement de l'énergie. Les processus précis qui expliquent cette défaillance sont encore incertains. Beaucoup d'études sur les poissons montrent cette dysfonction du cœur due à des mitochondries inefficaces (Hilton et al., 2010; Iftikar et al., 2014). En effet, il a été montré chez *Notolabrus celidotus* que sa capacité à produire efficacement de l'ATP dans le cœur est limitée avant même qu'il atteigne la température à laquelle il y a insuffisance cardiaque. Cette perte de capacité à produire de l'ATP est expliquée par une perte d'intégrité de la membrane mitochondriale, une diminution de la capacité à synthétiser l'ATP et la libération de cytochrome c (Iftikar & Hickey, 2013). La libération du cytochrome c de la membrane externe de la mitochondrie, une protéine impliquée dans la phosphorylation oxydative, peut déclencher l'apoptose cellulaire (Kadenbach et al., 2004; Iverson & Orrenius, 2004). Le métabolisme du cœur est donc une voie intéressante à explorer pour trouver des déterminants physiologiques de la tolérance thermique.

Une étude a permis de dévoiler que le cerveau répond similairement au cœur lors d'une acclimatation thermique (à basse et haute température). Dans les deux cas (cœur et cerveau), une diminution des performances mitochondriales (diminution du ETS) ont été observée chez le choquemort (*Fundulus heteroclitus*) lors d'une acclimatation à 5°C et 33°C comparativement à 15°C. Ils ont observé que les effets de l'acclimatation thermique ont été plus intenses dans le cerveau que le cœur (Chung et al., 2017). Ils suggèrent que cela est dû soit à une protection plus efficace ou privilégiée des performances mitochondriales du cœur ou soit le cerveau est plus susceptible aux effets négatifs de l'acclimatation. Les performances du cœur seraient sauvegardées afin de maintenir la performance de tout l'animal face au changement de température. Ils suggèrent également que les mitochondries du cerveau seraient plus sensibles à la température et que leur dysfonctionnement survient à des températures plus basses comparativement au cœur. Le cerveau, centre de contrôle des animaux bilatériens, est un organe avec une composition lipidique stable. La diète influence

peu sa composition en lipides polaires (Skalli et al., 2006). Il a été suggéré que, pour changer la composition lipidique de cet organe, une perturbation alimentaire pathologique ou une supplémentation prolongée de la diète serait nécessaire (Bourre et al., 1993; Zérouga et al., 1991). Des études ont toutefois montré que le cerveau peut être un organe plastique. La taille du cerveau peut varier pour s'adapter à un environnement stressant. Un cerveau de taille élevée est avantageux puisqu'il améliore les capacités cognitives, mais cet atout est accompagné d'une demande énergétique élevée (Kotrschal et al., 2013). Lors d'un stress physiologique important, une réduction de la taille du cerveau aide à réduire le coût du métabolisme basal (Crispo & Chapman, 2010; Toli et al., 2017). Toutes ces indications montrent que le cerveau répond aux changements de température et possède une certaine capacité d'acclimatation, ce qui fait de lui, avec le cœur, une piste intéressante pour identifier des déterminants de la tolérance thermique.

### **Adaptation du cœur et de la mitochondrie à des températures élevées**

Le cœur est un organe doté d'une certaine plasticité, ce qui lui permet de s'ajuster aux changements environnementaux comme la variation de température, l'hypoxie ou le manque de nourriture, mais également pour répondre à une augmentation de la demande en énergie (Gamperl & Farrell, 2004). Ses ajustements physiologiques lui permettent de limiter les dommages et les dysfonctions qui pourraient se produire lorsque l'organisme est confronté à des températures en dehors de son optimum thermique. La morphologie (ex. hypertrophie ou atrophie) et la composition des tissus (ex. proportion de myocarde compacts et spongieux) du cœur peuvent se modifier afin de mieux répondre aux besoins de l'organisme et lui permettre de s'acclimater à des températures plus froides ou plus chaudes (Keen et al., 2017). Dans le cas d'une acclimatation à des températures plus élevées, le cœur des poissons va généralement répondre par une augmentation du rythme cardiaque, un ventricule plus large et des muscles contractiles plus forts, ce qui va lui permettre de pomper un plus gros volume de sang et d'augmenter l'apport en oxygène dans les tissus (Klaiman et al., 2011). Un ventricule plus large ainsi qu'un niveau élevé en myoglobine cardiaque ont été associés à une

CTmax plus élevée chez la perche du Nil (*Lates niloticus*) (Nyboer & Chapman, 2018), le bar commun (*Dicentrarchus labrax*) (Anttila et al., 2023) et plusieurs groupes de saumons atlantiques (*Salmo salar*) (Anttila et al., 2013).

Au niveau de la mitochondrie, la composition lipidique des phospholipides constituant les membranes mitochondriales joue un rôle primordial dans le maintien de l'homéostasie des processus métaboliques et physiologiques s'y déroulant. Elle peut notamment exercer une grande influence sur la production d'ATP par les mitochondries en affectant les propriétés chimiques et physiques des membranes (Hulbert & Else, 1999). Lors de variations de température de leur environnement (ex. avec les saisons), les poissons possèdent la capacité de moduler la composition en acides gras dans leur membrane cellulaire ce qui permet de maintenir des conditions optimales pour que les enzymes et protéines extrinsèques (associées à la membrane) et intrinsèques (intégrées dans la membrane) assurent leurs fonctions. Cette aptitude présente chez les poissons (Hazel, 1984; Cossins & Prosser, 1982; O'Brien et al., 2021) et d'autres groupes d'organismes (ex. bactérie (Chattopadhyay & Jagannadham, 2001; Herrera et al., 2021), crabe (Cuculescu et al., 1995; Cuculescu et al., 1999), insecte (van Dooremalen et al., 2011)) se fait appeler adaptation homéovisqueuse et leur permet de faciliter l'acclimatation ou l'adaptation de leur métabolisme énergétique selon la température. À des températures froides, il y a généralement une proportion plus élevée d'acides gras polyinsaturés (PUFA) à longues chaînes dans les membranes cellulaires alors qu'à des températures chaudes, la quantité d'PUFA diminue et celle d'acides gras saturés (SFA) augmente (Hazel, 1995).

### **Structure et composition des phospholipides et dynamique des membranes**

Les membranes cellulaires sont formées d'une bicouche de phospholipides, d'autres lipides (ex. cholestérol) et de protéines (ex. glycoprotéines) (Hulbert & Else, 1999). Les phospholipides sont constitués d'une tête polaire (ex. éthanolamine, choline, sérine) et d'une queue hydrophobe constituée d'acides gras de 16 à 22 carbones. La composition en lipide

des membranes affecte ses propriétés physico-chimiques. Elle va jouer entre autres sur la fluidité et la perméabilité des membranes. La fluidité est la capacité des composantes à bouger à travers la membrane, c'est-à-dire la facilité avec laquelle les phospholipides et les protéines peuvent faire des rotations sur elles-mêmes et se déplacer latéralement. La perméabilité est la capacité à se laisser traverser par diverses substances, facilité qui varie d'une substance à l'autre (Bell et al., 1986; Garrett & Grisham, 2000).

La température altère la fluidité des membranes cellulaires et mitochondriales. À des températures froides, les forces de van der Waals qui lient les acides gras sont renforcées. La membrane devient plus solide. Le mouvement des protéines est alors plus difficile en raison de phospholipides plus entassés et serrés entre eux. À des températures chaudes, l'effet inverse se produit. La membrane devient plus liquide, ce qui lui offre une meilleure fluidité. Cependant, cela peut rendre la membrane trop perméable aux ions et molécules et occasionner des dysfonctionnements de la cellule ou de l'organite dus à une perte de contrôle sur les intrants et extrants (figure 3) (Garrett & Grisham, 2000; Moyes & Schulte, 2014).

Plusieurs espèces d'organismes sont capables de moduler la composition lipidique de leurs membranes cellulaires pour contrer les effets des changements de température et maintenir un mouvement moléculaire approprié ainsi qu'une homéostasie adéquate des processus métaboliques et physiologiques. Les poissons expriment des adaptations homéovisquieuses qui leur permettent de modifier la fluidité de leur membrane par le changement de la composition en acides gras des phospholipides membranaires, soit en modulant la longueur des chaînes hydrocarbonées et/ou le niveau d'insaturation (Hazel, 1995). Les acides gras à petite chaîne hydrocarbonée ont moins d'interactions avec les acides gras adjacents, ce qui permet d'augmenter la fluidité de la membrane. La présence d'une ou plusieurs insaturations (double liaison) permet d'introduire une courbure dans la chaîne de carbone de l'acide gras. Cette courbure réduit les interactions avec les autres acides gras proche et empêche un bon compactage des acides gras dans la membrane, ce qui la rend également plus fluide. Plus il y aura d'PUFA dans les phospholipides, plus la membrane sera fluide (Hazel & Williams, 1990). Les poissons sont également en mesure de modifier la



composition en phospholipides. Une augmentation de la proportion en phosphatidylcholines permet d'augmenter la fluidité de la membrane alors qu'une augmentation en phosphatidyléthanolamines et en sphingomyéline vont la diminuer (Fajardo et al., 2011; Dawaliby et al., 2016; Biederman et al., 2019a). Ces classes de lipides vont avoir un effet sur la fluidité membranaire en raison de la forme de leur tête polaire et de leur niveau d'hydratation. Les phosphatidylcholines ont une tête polaire occupant un volume aussi grand que les chaînes carbonées des acides gras et sont plus hydratées que les phosphatidyléthanolamines, ce qui résulte en un compactage moins serré des lipides hydrophobes adjacents (Cullis & Hope, 1991; Hazel & Williams, 1990). Ces caractéristiques font en sorte qu'une plus grande proportion de phosphatidylcholines augmente la fluidité membranaire. Les phosphatidyléthanolamines ont une tête polaire occupant un volume plus petit que les chaînes carbonées des acides gras et sont des donneurs d'hydrogène (Cullis & Hope, 1991; Mahler et al. 1988). Ils forment donc des liaisons hydrogène avec les phospholipides adjacents, ce qui rend la membrane plus compacte et moins fluide. Les sphingomyélines ont la même tête polaire que les phosphatidylcholines, mais ils sont moins hydratés que ceux-ci. Ils ont alors tendance à compacter plus les membranes et contribuent à les rendre moins fluides (M'Baye et al. 2008). Une différence de fluidité des membranes mitochondriales entre deux espèces antarctiques de *Notothenioidei* (*Chaenocephalus aceratus* et *Notothenia coriiceps*) a été associée à une différence de ratio phosphatidyléthanolamines/phosphatidylcholines (PE/PC), la meilleure fluidité étant liée à un faible ratio PE/PC (Biederman et al., 2019b). La modification du profil lipidique des membranes est effectuée par des enzymes qui soit allongent, ou raccourcissent, saturent ou désaturent les acides gras ou par endocytose et exocytose qui permettent de changer les types de phospholipides (Ernst et al., 2016).

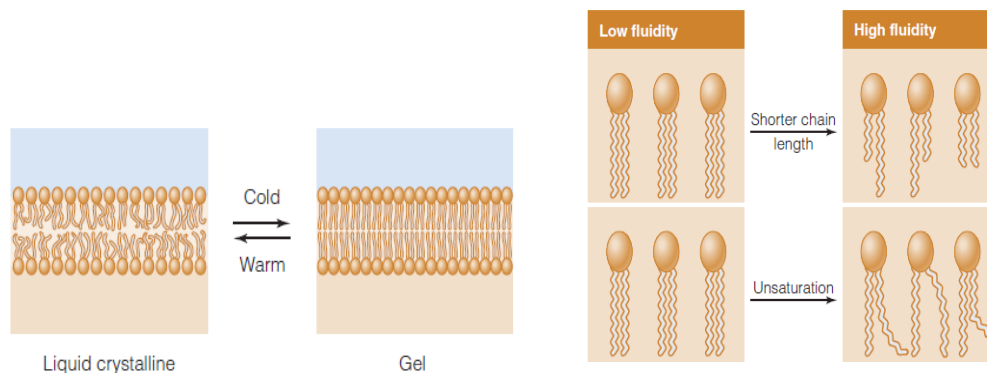


Figure 3. État de la membrane en fonction de la température et fluidité de la membrane selon la composition en acides gras des phospholipides (Moyes & Schulte, 2014)

Une acclimatation des membranes à des températures froides résulte en une augmentation de la proportion d'PUFA afin de maintenir une bonne fluidité pour le bon fonctionnement des protéines membranaires. Elle a d'ailleurs été observée chez plusieurs espèces de poissons qui ont été acclimatées au froid (Hsieh et al., 2003; Cossins & Macdonald, 1989; Cossins, 1977; Wallaert & Babin, 1994; Dey et al., 1993). Le gaspareau (*Alosa pseudoharengus*) augmente la proportion d'PUFA pour survivre aux températures froides de l'hiver (Snyder & Hennessey, 2003). Une acclimatation des membranes à des températures plus chaudes se traduit plutôt par une augmentation des SFAs et une réduction des PUFAs. Ce phénomène a été observé dans le cœur de la perche commune (*Perca fluviatilis*) suite à une acclimatation à des températures chaudes (Ekström et al., 2017). Ce changement a diminué l'insaturation du cœur du poisson, ce qui lui a permis de rigidifier ces membranes pour contrer les effets d'une hausse de la température afin de maintenir une fluidité et une perméabilité adéquate. Aussi, la proportion d'SFA dans les membranes du foie a augmenté chez une espèce de poissons antarctiques, *Trematomus bernacchii*, lorsque celui-ci a été acclimaté à une température élevée de 6 °C, ce qui est inhabituel pour un organisme sténotherme qui ne connaît que des variations saisonnières allant de -1,9 °C à 1,8 °C (Malekar et al., 2018).

## **Importance de la composition lipidique des membranes mitochondriales**

Les membranes cellulaires ont un rôle d'organisation en compartimentant les processus biologiques. Par exemple, les différents organites de la cellule, comme le noyau, les mitochondries, le réticulum endoplasmique sont toutes entourées d'une membrane. Elle n'est pas une barrière imperméable. Au contraire, elle gère l'entrée et la sortie de molécules et d'ions, ce qui permet à la membrane de contrôler son environnement intérieur (Garrett & Grisham, 2000). Plusieurs processus sont liés aux membranes cellulaires. Le transfert d'information (ex. stimuli sensoriels et communications intercellulaires), la détection des hormones et des nutriments, l'activité du ETS et la phosphorylation oxydative sont tous des processus étroitement liés à des structures membranaires (Ernst et al., 2016). Concernant ces deux derniers, la composition lipidique des membranes mitochondriales influence énormément le bon maintien des fonctions et de l'activité des enzymes liées à la phosphorylation oxydative et au transfert d'électrons pour la production d'ATP, et le contrôle des fuites de protons ( $H^+$ ) au travers des membranes mitochondriales (Hulbert & Else, 1999). Considérant que les phospholipides représentent plus de 90 % des lipides de la mitochondrie (Fleischer & Fleischer, 1967), la composition lipidique des membranes mitochondriales a donc une forte influence sur la bioénergétique de la mitochondrie. En effet, elle détermine les propriétés physiques et chimiques des membranes et celles-ci modulent l'activité des complexes enzymes-protéines de la phosphorylation oxydative (Xu et al., 2021), la perméabilité passive de petites molécules par les pompes transmembranaires (ex.  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$ ) (Shinoda, 2016), l'assemblage des supercomplexes (Bogdanov et al., 2008) et la formation et l'intégrité des crêtes sur la membrane mitochondriale interne (Mileykovskaya & Dowhan, 2009; Szeto, 2014; Schlame & Ren, 2009). Les crêtes formées par la membrane interne mitochondriale sont des environnements optimaux pour l'activité métabolique des complexes de la phosphorylation oxydative, du ETS et pour l'accumulation de protons dans l'espace intermembranaire. Elles sont donc fortement nécessaires et leur perturbation peut entraîner une perte de l'efficacité de la mitochondrie à produire l'ATP (Ikon & Ryan, 2017).

Deux chercheurs, Tony Hulbert et Paul Else, ont émis l'hypothèse qu'il y aurait une forte corrélation entre le contenu en PUFA et l'activité des protéines membranaires, allant même à décrire les membranes comme étant les « *pacemakers of metabolism* » (Hulbert & Else, 1999; Hulbert et al., 2007). Le degré de polyinsaturation des membranes est corrélé avec l'activité métabolique des cellules chez les vertébrés (Else & Hulbert, 1987; Hulbert & Else, 1990; Brand et al., 1991) et est particulièrement lié avec une hausse de l'activité des pompes à sodium (Na<sup>+</sup>) imbriquées dans la membrane (Hulbert & Else, 1999; Raynard & Cossins, 1991). Un autre paramètre des membranes ayant une influence sur le métabolisme énergétique est le ratio PC/PE. Il est un régulateur important de l'intégrité des membranes cellulaires et un ratio anormalement faible ou élevé peut influencer le métabolisme énergétique. Il a aussi été lié à la progression de maladies. Un faible ratio PC/PE augmente la respiration mitochondriale et la synthèse d'ATP (van der Veen et al., 2017).

### **Effet du stress oxydant sur les membranes**

Les ROS produits lors du stress oxydant et spécialement les superoxydes sont hautement instables et vont vouloir rapidement s'attaquer aux molécules les plus proches de leur site de génération comme les phospholipides membranaires. En effet, l'oxygène et certaines espèces de radicaux sont plus solubles dans la bicouche lipidique des membranes que dans des solutions aqueuses ce qui fait des phospholipides une cible facile aux attaques (Massaeli et al., 1999). La peroxydation des lipides est le processus d'oxydation des lipides insaturés par les ROS. La susceptibilité individuelle des acides gras à la peroxydation augmente exponentiellement avec le nombre de doubles liaisons (Holman, 1954). Par exemple, les PUFAs sont beaucoup plus susceptibles à la peroxydation que les acides gras monoinsaturés (MUFA) ou les SFAs en raison de leur contenu élevé en doubles liaisons (Yin et al., 2011).

Les liaisons doubles (CH=CH) sur les chaînes de carbone des acides gras affaiblissent les liaisons simples C-H à proximité. Celles-ci deviennent plus susceptibles de se faire

attaquer par les ROS (représenté par  $\bullet\text{OH}$  à la figure 4). Le ROS arrache le  $\text{H}^+$  de la liaison C-H créant ainsi un radical (*lipid radical*). Cette première étape est la phase d'initiation de la peroxydation des PUFAs. Le carbone qui a perdu son  $\bullet\text{H}$  se lie alors avec un  $\text{O}_2$  pour former un radical de carbone ( $\text{COO}\bullet$ -, *lipid peroxy radical*), une molécule hautement réactive. Celui-ci peut, à son tour, attaquer une liaison C-H d'un autre acide gras pour former un hydroperoxyde de lipide et un autre radical. Cette étape est la phase de propagation. En plus d'oxyder les lipides adjacents, le radical de carbone peut également attaquer les protéines membranaires. L'hydroperoxyde de lipide peut également produire un grand nombre de molécules réactives pouvant mener à des dommages oxydatifs. La peroxydation, si elle n'est pas arrêtée par un antioxydant ou autres mécanismes (ex. plasmalogène), se propage d'elle-même et amplifie les dommages oxydatifs des ROS aux macromolécules (protéines et ADN) (Halliwell & Gutteridge, 2015; Hulbert et al., 2007; Niki, 1987). Lors d'un stress oxydant, les acides gras oxydés sont plus ou moins rapidement remplacés par des nouveaux provenant de triglycérides (Girón-Calle et al., 1997).

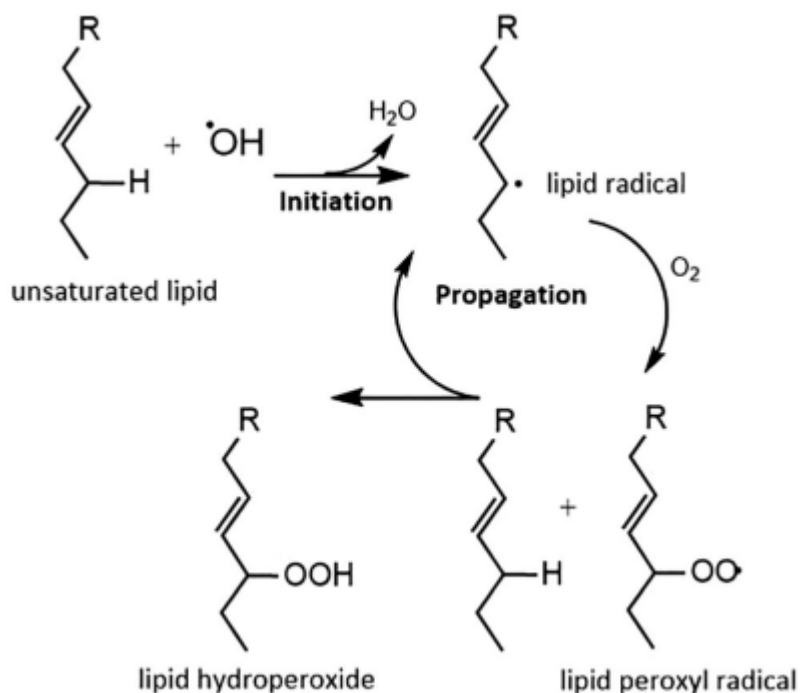


Figure 4. Processus de peroxydation des lipides (Filipowska et al., 2021)

La peroxydation des lipides membranaires et ces sous-produits oxydants entraînent une perturbation de la structure des membranes qui diminue sa fluidité (Chen & Yu, 1994). Ils perturbent aussi l'assemblage des supercomplexes. Par exemple, la peroxydation des cardiolipides perturbe l'organisation des supercomplexes. Les complexes enzymatiques de la phosphorylation oxydative se regroupent pour former de grandes structures moléculaires que l'on nomme supercomplexe. Une augmentation de la complexité des supercomplexes a été associée à une plus grande longévité chez les bivalves (Rodríguez et al., 2022). Les cardiolipides sont impliqués dans l'organisation des supercomplexes (Pfeiffer et al., 2003; Mileykovskaya & Dowhan, 2009; Bazán et al., 2013). Ils sont nécessaires pour un regroupement et fonctionnement optimaux des complexes et protéines de transport de la respiration mitochondriale (Fry & Green, 1981; Zhang et al., 2005; Schwall et al., 2012). Une oxydation des acides gras des cardiolipides peut alors entraîner une dissociation des supercomplexes (Szeto, 2014). Il a été aussi démontré que le désassemblage du supercomplexe comprenant le complexe I et III augmente fortement la production de superoxydes du complexe I (Maranzana et al., 2013). La dissociation des supercomplexes peut donc mener à une hausse du stress oxydant au sein de la mitochondrie.

### **Robustesse des membranes au stress oxydant**

Pour minimiser les dégâts créés par la peroxydation des lipides, les membranes doivent être plus robustes aux attaques des ROS générés lors d'un stress oxydant. Il est possible de calculer la susceptibilité d'une membrane à la peroxydation des lipides. Cette mesure se nomme l'indice de peroxydation (PI). Il se calcule en estimant le contenu des différents acides gras membranaires et en tenant compte de leur nombre de doubles liaisons (Hulbert et al., 2007). Par exemple, un acide gras à six doubles liaisons est beaucoup plus apte à se faire oxyder qu'un acide gras avec deux doubles liaisons. Deux membranes avec les mêmes pourcentages de SFA, MUFA et PUFA auront des indices de peroxydation différents si une

a 100 % de C20:5n3 et l'autre 100 % de C18:2n6 (Else, 2017). En plus d'indiquer le niveau de susceptibilité des membranes à la peroxydation, l'indice de peroxydation permet d'estimer la production potentielle de molécules nocives pour les fonctions cellulaires. L'indice d'insaturation est une mesure de la densité de doubles liaisons dans la membrane (Hulbert et al., 2007). Les formules de ces deux indices sont présentées ci-dessous :

$$\text{Indice de peroxydation} = 0.025 X (\% \text{ monoénoïques}) + 1 X (\% \text{ diénoïques}) + 2 X (\% \text{ triénoïques}) + 4 X (\% \text{ tétraénoïques}) + 6 X (\% \text{ pentaénoïques}) + 8 X (\% \text{ hexaénoïques})$$

$$\text{Indice d'insaturation} = 1 X (\% \text{ monoénoïques}) + 2 X (\% \text{ diénoïques}) + 3 X (\% \text{ triénoïques}) + 4 X (\% \text{ tétraénoïques}) + 5 X (\% \text{ pentaénoïques}) + 6 X (\% \text{ hexaénoïques})$$

Une réduction de PI des membranes a été associée à une meilleure résistance face au stress oxydant chez les bivalves (Munro & Blier, 2012) et chez les poissons (Ekström et al., 2017). En effet, une diminution de PI a été observée dans les membranes des branchies avec une augmentation du maximum de longévité chez différentes espèces de bivalves. Les espèces longévives ont tendance à avoir des membranes résistantes au stress oxydant en raison de leur faible PI, mais aussi par la présence de plasmalogènes et d'acides gras « *non-methylene-interrupted* » (Munro & Blier, 2012). Ces deux molécules réduisent la sensibilité de la membrane à la peroxydation en raison de leur propriété structurale (Kaneniwa et al., 1988; Yavin et al., 2002; Engelmann, 2004; Kuczynski & Reo, 2006). Aussi, la diminution de PI avec la longévité était plus abrupte dans les membranes mitochondriales que dans les membranes cellulaires, suggérant une plus grande importance de celles-ci (Munro & Blier, 2012). La majorité des ROS sont produits par le ETS se situant dans la membrane interne de la mitochondrie (Brand, 2010). Pour cette raison, les membranes mitochondriales sont plus sujettes à la peroxydation des lipides en raison de leur proximité avec les principaux sites de production de ROS. Des études comparatives chez les mammifères et les oiseaux ont montré également une corrélation négative entre le PI des phospholipides des muscles squelettiques

et du foie et le maximum de longévité chez différentes espèces (Hulbert et al., 2007). L'hypothèse « *membrane pacemaker theory of ageing* » stipule que la composition en acides gras des membranes, particulièrement en PUFA, est un déterminant de la longévité pour la raison que les PUFAs sont plus disposés à la peroxydation et à amplifier le stress oxydant (Blier et al., 2017 ; Hulbert et al., 2007).

Une augmentation de la proportion en SFA et une diminution en PUFA dans les membranes cellulaires du cœur ont été observées chez la perche européenne (*Perca fluviatilis*) suite à une acclimatation à des températures chaudes. Cet ajustement a permis de réduire l'insaturation et le PI des membranes et est associé à une résistance élevée au stress oxydant chez cette espèce (Ekström et al., 2017). Dans une autre étude, une corrélation négative a été trouvée entre le PI du cœur et la tolérance thermique chez deux espèces de salmonidés et leurs hybrides, l'omble chevalier et l'omble de fontaine (*Salvelinus alpinus* et *Salvelinus fontinalis*). Une CTmax élevée est donc associée à un PI faible dans le cœur. De plus, une corrélation négative a été aussi observée entre la CTmax et trois autres variables : le contenu total en oméga-3 et la proportion en acide eicosapentaénoïque (EPA, C20:5n3) et en ARA (C20:4n6). Une diminution du pourcentage de PUFA dans le cœur serait responsable d'une meilleure tolérance thermique puisque cela réduirait la susceptibilité du cœur à la peroxydation en cas de stress oxydant (Christen et al., 2020). Puisqu'une grande partie des lipides se retrouve dans les membranes cellulaires, il est possible d'affirmer qu'une membrane plus robuste face au stress oxydant permet à l'organisme de mieux performer en cas de stress thermique et de limiter les dommages liés au vieillissement. Une diète riche en SFA peut offrir une bonne prévention contre le stress oxydant dans les mitochondries du cœur. Des rats nourris avec de l'huile de noix de coco, riche en SFA, ont exprimé la concentration la plus faible en protéines oxydées et lipides peroxydés comparativement à un autre groupe nourri avec de l'huile de poisson, riche en PUFA. Un plus faible contenu en oméga-3 et une faible insaturation dans les mitochondries du cœur ont été observés dans le groupe nourri avec de l'huile de noix de coco (Lemieux et al., 2011). Une proportion plus élevée en SFA confère une protection contre le stress oxydant puisque ceux-ci sont moins susceptibles de se faire peroxyder que les PUFAs.



### **Modèle d'étude : l'omble de fontaine, *Salvelinus fontinalis***

L'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) est un salmonidé ayant une valeur économique élevée au Canada. Elle est l'espèce la plus convoitée par les pêcheurs au Québec (Pêches et Océans Canada, 2010) et la plus vendue aux fins d'ensemencement pour la pêche sportive (Arvisais et al., 2013). Elle peut tolérer des températures entre 0 °C à 24 °C en nature. L'étendue de température optimale pour sa croissance et ses activités est de 11 °C à 16 °C (MacCrimmon & Campbell, 1969). Elle a tendance à éviter les températures excédant 20 °C (Stitt et al., 2014). Les populations d'ombles de fontaine sont souvent confinées dans des milieux lacustres et doivent supporter les variations de température de leurs habitats puisqu'ils ne peuvent pas se disperser vers d'autres endroits. Les salmonidés sont un bon modèle d'étude de par leur capacité à répondre et à s'adapter aux variations de température, particulièrement aux variations saisonnières auxquelles ils sont confrontés chaque année (Eliason et al., 2011; Larsson et al., 2005; Narum et al., 2010). L'omble de fontaine possède une grande répartition latitudinale en Amérique du Nord s'étendant du nord du Québec au nord de la Géorgie aux États-Unis (United States Geological Survey, 2019), ce qui a créé des populations adaptées à des environnements thermiques différents.

### **Problématique**

Dans le contexte actuel de changements climatiques, il devient impératif d'approfondir nos connaissances sur les traits physiologiques et les fonctions métaboliques qui dictent la sensibilité thermique des ectothermes et qui expliquent la variabilité de températures maximales observées entre les différentes espèces, les différentes populations ou les individus d'une même espèce. Avec une augmentation de l'intensité, de la fréquence et de la longueur des vagues de chaleur, les espèces d'ectothermes sont et seront de plus en plus exposées à des conditions environnementales extrêmes auxquelles elles ne sont pas adaptées pour survivre à long terme. Les espèces et les populations nordiques sont les plus touchées

par le réchauffement climatique. Au Québec, nous avons une grande diversité de poissons d'eau douce de zones froides qui est maintenant menacée par la hausse des températures moyennes et maximales. Par exemple, il a été prédit par Casselman (2002) qu'une augmentation de 3°C de la température de l'eau aura pour effet de diminuer de 20% la répartition et l'abondance des populations d'eau froide de salmonidés. Connaître les mécanismes qui déterminent leur sensibilité ou leur robustesse face à ces conditions extrêmes est devenue une condition nécessaire afin de prévoir la réaction des espèces face à l'avancement des changements climatiques. Parmi les différents mécanismes qui jouent un rôle dans la tolérance thermique des espèces, il faut entre autres chercher des déterminants physiologiques du seuil de tolérance thermique qui expliquent les différences entre les individus, les populations et les espèces et qui potentiellement limitent leur capacité à croître et se reproduire à des températures supérieures à la normale. Étudier la plasticité, la variabilité et l'héritabilité de ces déterminants devient critique pour estimer le potentiel de survie des populations et anticiper l'adaptabilité des espèces à leur environnement changeant, c'est-à-dire que l'on aura une certaine capacité à prédire leur potentiel évolutif.

### **Objectifs et hypothèses**

L'objectif principal de ce projet de maîtrise est d'établir des relations entre le profil d'acides gras des membranes cellulaires et mitochondriales et la limite supérieure de tolérance thermique de l'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) dans le but d'identifier d'éventuels traits physiologiques expliquant la variabilité de CTmax observée à l'intérieur de cette espèce. Je me concentre sur les acides gras membranaires parce que la robustesse des membranes mitochondriales du cœur, face au stress oxydant, a été fortement associée à la tolérance thermique des individus (Christen et al., 2020). Toutefois, les études de Christen se sont limitées aux mitochondries cardiaques. J'ai donc décidé d'étendre l'étude à d'autres tissus, en plus du cœur, soit le cerveau, le plasma et les érythrocytes afin d'explorer le plus de pistes possibles. Deux populations d'ombles de fontaine d'origine différente ont été étudiées : une population domestiquée provenant d'une pisciculture québécoise et une

sauvage provenant de la réserve faunique de Rimouski au Québec. La population d'ombles sauvages a été échantillonnée dans une rivière sans antécédent d'ensemencements afin de s'assurer d'obtenir un phénotype le plus sauvage possible. Ces deux populations m'ont permis de déterminer si les corrélations trouvées entre la CTmax et la composition en acides gras explique la divergence de CTmax observée entre les individus d'une même lignée (interindividuelle) et entre deux populations (sauvages et domestiquées) (interpopulationnelles). L'étude met l'accent sur l'hypothèse proposant que la susceptibilité des membranes mitochondriales cardiaques au stress oxydant dicte le seuil de tolérance thermique. Comme discuté ci-haut, les mitochondries du cœur semblent démontrer un rôle important dans l'établissement des limites de tolérance thermique chez les poissons. Les mitochondries du cerveau pourraient également être impliquées à un moindre niveau. Pour répondre à l'objectif de la recherche, des profils de la composition en acides gras de différents tissus (cœur, cerveau, plasma et érythrocytes) et dans différentes fractions (enrichies ou peu enrichies (débris cellulaire) en mitochondries) ont été effectués sur des groupes d'ombles de fontaine avec une variabilité interindividuelle de CTmax.

### **Méthodologie**

L'utilisation de deux populations me permet de comparer des phénotypes différents à l'intérieur d'une même espèce, ce qui offre une meilleure résolution pour identifier des traits physiologiques associés au CTmax. N'étant plus exposés aux aléas de la vie sauvage, et élevés dans des conditions contrôlées depuis de nombreuses générations, les ombles de fontaine de piscicultures ne sont plus confrontés aux stress environnementaux et la sélection naturelle devient moins efficace à transmettre les traits avantageux. L'inactivité et le taux de croissance élevé que subissent les poissons en aquaculture ont modifié la morphologie du cœur (ventricule plus round) et ont augmenté l'accumulation de graisse sur celui-ci (Gamperl & Farrell, 2004). Il a été observé que ces deux traits augmentent les difformités cardiaques et le développement d'artériosclérose coronarienne chez le saumon (Farrell, 2002; Saunders et al., 1992). La sélection pour des poissons à croissance rapide entraîne des conséquences

notables sur la santé des stocks de poissons d'élevage. Par exemple, elle augmente l'incidence d'insuffisance cardiovasculaire dans les stocks de saumons d'aquaculture, ce qui mène à une hausse de la mortalité (Poppe et al., 2003; Gamperl & Farrell, 2004). Comprendre ce qui rend les poissons plus aptes à faire face au stress thermique pourrait nous aider à créer des lignées qui résisteront également mieux aux maladies et produiront des poissons en meilleure santé.

Les ombles de fontaine ont été soumis à un test de tolérance thermique afin de déterminer la CTmax pour chaque individu. La CTmax peut être mesurée sous forme de température (CTmax) ou de temps passé dans le test de tolérance thermique (tCTmax). La CTmax a été décrite par Cox (1974) et Becker & Genoway (1979) comme étant la température à laquelle les activités de locomotion deviennent désorganisées et où l'organisme perd sa capacité à s'échapper de conditions qui vont rapidement le mener à sa mort. Ce test n'est toutefois pas létal et permet donc d'échantillonner les individus chez lesquels nous avons mesuré la CTmax, plusieurs jours plus tard lorsqu'ils ne sont plus sous l'effet d'un stress. Le test de tolérance thermique a été effectué deux fois à un mois d'intervalle pour tous les ombles de fontaine domestiqués afin de s'assurer de la répétabilité de la méthode.

Avant de subir le test, la moitié des poissons ont subi quotidiennement une variation de température, c'est-à-dire une augmentation rapide suivie d'une diminution rapide de leur température environnementale. Toutefois, ces variations de température se situaient dans l'intervalle de température optimale de l'espèce, c'est-à-dire entre 11 et 16 °C. Ces variations quotidiennes ont pour rôle d'induire un léger stress régulier et d'affecter la CTmax chez ces groupes. Les poissons avec des CTmax élevées, moyennes et faibles ont été échantillonnés une semaine après le test de tolérance thermique. Ce moment a été choisi pour l'échantillonnage afin de laisser les poissons revenir à un état physiologique stable et ne montrant pas de signe de stress suite au test de tolérance thermique, ce qui nous permet d'obtenir le profil d'acide gras général pour chaque individu (figure 5).

Les mitochondries ont été isolées dans le cœur et le cerveau. La méthode utilisée permet d'obtenir une partie riche en mitochondries et une partie pauvre en mitochondries que l'on nommera « débris cellulaire » pour chaque organe. La séparation des tissus en deux fractions permet de comparer la composition en acides gras des phospholipides des membranes mitochondriales et des membranes cellulaires, et de déterminer si les potentielles corrélations trouvées dans les premières sont présentes ou non dans les deuxièmes. Les acides gras de chaque échantillon ont été transformés en esters méthyliques d'acides gras par une méthode de transestérification directe pour ensuite être séparés et quantifiés par chromatographie en phase gazeuse.

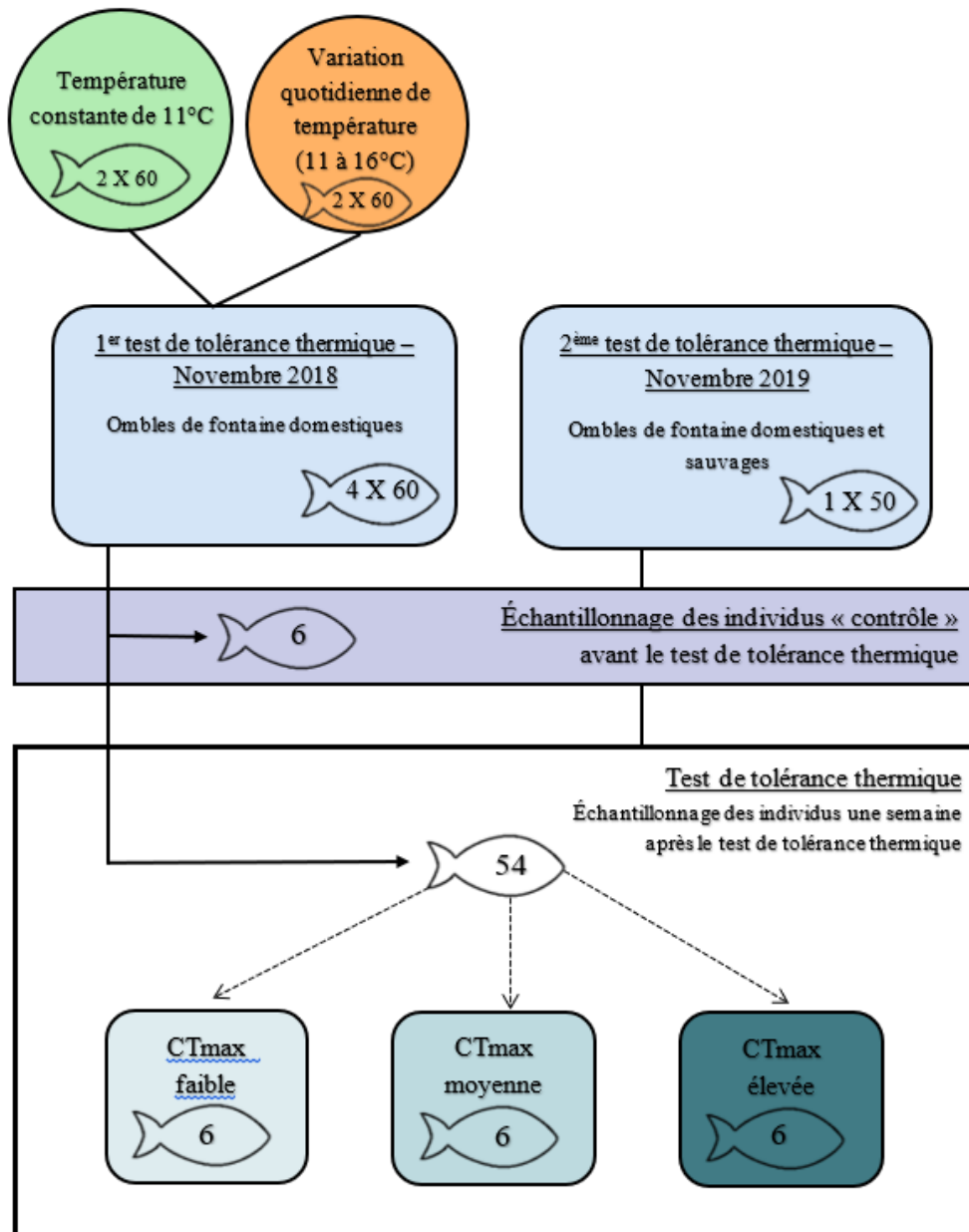


Figure 5. Plan expérimental de l'étude

**CHAPITRE 1**  
**LA COMPOSITION EN ACIDES GRAS DES MITOCHONDRIES**  
**CARDIAQUES DICTE-T-ELLE LA LIMITE SUPERIEURE DE TOLERANCE**  
**THERMIQUE CHEZ L'OMBLE DE FONTAINE ?**

**1.1 RESUME EN FRANÇAIS DU PREMIER ARTICLE**

Face aux changements climatiques globaux, la capacité d'adaptation de l'omble de fontaine, en tant qu'organisme ectotherme, dépendra de l'ajustement des processus physiologiques et métaboliques capables de maintenir l'homéostasie interne de l'organisme. Il devient alors pertinent d'étudier les traits physiologiques et les fonctions métaboliques qui dictent la sensibilité thermique des ectothermes et qui expliquent la variabilité de CTmax observée entre espèces, populations ou individus. La composition en acides gras des phospholipides membranaires est un trait important puisqu'elle peut s'adapter en fonction des changements de température et est connue pour jouer un rôle dans la production d'ATP et la résistance au stress oxydatif. À la température proche de la limite maximale de tolérance thermique, il semble que l'intégrité des membranes est compromise ainsi que toutes les activités métaboliques qui en dépendent (ex. production d'énergie, transport d'ions et molécules). L'objectif principal de cette étude est de tenter de vérifier s'il existe une relation entre le profil d'acides gras et la CTmax chez deux populations (domestiquée et sauvage) d'ombles de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) afin d'identifier d'éventuels traits physiologiques qui expliqueraient la variabilité de la tolérance thermique au sein de cette espèce. Nous voulions tester l'hypothèse selon laquelle la susceptibilité à la peroxydation des membranes mitochondriales cardiaques dicte les limites thermiques. La CTmax de chaque poisson a été déterminée et les profils d'acides gras ont été réalisés par chromatographie en phase gazeuse avec détecteur par ionisation de flamme. Comme la robustesse au stress oxydant a été associée à la tolérance thermique dans les membranes mitochondriales des

poissons, nous nous sommes concentrés sur le profil lipidique des mitochondries du cœur, mais nous avons également examiné ceux du cerveau, du plasma sanguin et des érythrocytes. Le ratio oméga-3/oméga-6, la teneur en oméga-6 et en ARA sont corrélés au tCTmax dans les mitochondries cardiaques chez l'omble de fontaine domestiqué. La tCTmax et l'ARA étaient également corrélés dans les mitochondries cardiaques chez les ombres sauvages et dans le plasma sanguin chez les ombles domestiqués. Les poissons avec une tCTmax plus élevée étaient associés à un ratio oméga-3/oméga-6 plus élevé et à une teneur plus faible en oméga-6 et en ARA. Ces observations peuvent expliquer en partie la variabilité de la tolérance thermique au sein de cette espèce. Cependant, ils ne peuvent pas expliquer la différence de tCTmax observée entre les deux populations étudiées. D'autres mécanismes et traits physiologiques doivent intervenir pour expliquer les différences de tCTmax observées entre ces deux populations.

L'article qui suit, intitulé « Does fatty acid profile of heart mitochondria dictate thermal sensibility of brook charr? », n'a pas été soumis à un journal à l'heure actuelle. Il est prévu qu'il soit soumis à un journal au cours de l'année 2023.

En tant que premier auteur, j'ai contribué au développement des méthodes, planifié et participé à l'échantillonnage des ombles de fontaine et leur maintien en bassin, effectué les manipulations de laboratoire, réalisé les analyses statistiques et rédigé l'article. Emmanuelle Vandermeeren, candidate au doctorat en biologie, a planifié et participé à l'échantillonnage des ombles de fontaine et leur maintien en bassin, a planifié le protocole de CTmax, a participé aux analyses de CTmax et à la récolte des échantillons. Véronique Desrosiers a participé à l'exécution des tests de tolérance thermique et à la récolte des échantillons de tissus. Pierre Blier, directeur du projet de recherche, a planifié le projet, obtenu le financement, révisé l'article et supervisé le projet.



## **1.2 DOES FATTY ACID PROFILE OF HEART MITOCHONDRIA DICTATE THERMAL SENSIBILITY OF BROOK CHARR?**

Amélie St-Pierre<sup>1</sup>, Emmanuelle Vandermeeren<sup>1</sup>, Véronique Desrosiers<sup>1</sup> and Pierre U. Blier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Département de biologie, Université du Québec à Rimouski, Rimouski, QC, Canada

### **1.3 ABSTRACT**

In the context of global climate change, the adaptability of brook trout, as an ectothermic organism, will depend on the responses of physiological and metabolic processes which maintain the internal homeostasis of the organism. It then becomes relevant to identify the physiological traits and metabolic functions that dictate the thermal sensitivity of ectotherms and that could explain the variability of CTmax observed among species, populations or individuals. Fatty acid profiles of membrane phospholipids are an interesting avenue, as they are able to adapt to changes in temperature and are known to play a role in ATP production, and resistance to oxidative stress. Close to the CTmax, the integrity of the membranes is compromised as well as all the metabolic activities that depend on it (ex. energy production, transport of ions and molecules). The aim of this study is to find correlations between fatty acid profiles of heart mitochondria and other tissues, and the CTmax in two populations (domesticated and wild) of brook charr (*Salvelinus fontinalis*) explaining the variability of thermal tolerance within this species. We wanted to test the hypothesis that the susceptibility of cardiac mitochondrial membranes to peroxidation dictates the thermal limits. The CTmax of each fish has been determined and the fatty acid profiles were carried out by gas chromatography with a flame ionization detector. As the robustness of the heart's mitochondrial membrane to oxidative stress has been associated with the thermal tolerance, we decided to focus on lipid profiles of heart mitochondria, but we also looked at those of the brain, blood plasma, and erythrocytes. N-3/n-6 ratios, omega-

6 content and ARA are linked to tCTmax in heart mitochondria in farmed brook charr. Only ARA was correlated with wild fish in the same tissue and in farmed fish in blood plasma. Fish with higher tCTmax were associated with higher n-3/n-6 ratio and lower omega-6 and ARA content. These findings can partly explain the variability of thermal tolerance within this species. However, they cannot explain the divergences of the tCTmax observed between the two studied populations. Other mechanisms and physiological traits must be involved to explain these differences between the domestic and wild populations.

#### **1.4 INTRODUCTION**

Emergence of longer and more frequent heat waves (Hofmann & Todgham, 2010) accompanied by an increase in air and water temperature (Stocker, 2014) had been and will continue to be a major stressor of many species, and particularly ectotherm, by bringing these organisms close to, or over, their upper limit of thermal tolerance. These environmental changes impact abundance and geographic distribution of fish populations and species (Sunday et al., 2012; Perry et al., 2005) leaving them with few options to respond. They either adjust through physiological plasticity, genetic adaptation or they move to a more suitable thermal niche (Somero, 2010; Hofmann & Todgham, 2010; Davis et al., 2005). Some fish species and particularly fresh water fish are very limited in their potential dispersal, thereby their ability to adapt to fluctuations in thermal habitats depends on the modification of their biochemical and metabolic processes which further ensure the maintenance of homeostasis. (Schulte, 2014; Iftikar et al., 2014)

Thermal sensitivity and upper thermal tolerance of fish seem to be related to the cellular and mitochondrial functions in the heart (Somero, 2010; Christen et al., 2018). Studies suggest that cardiac functions decline when the organism is close to its upper thermal maximum, causing heart failure (Hilton et al., 2010; Iftikar et al., 2014). Increase in temperature is well known to be linked with an increase in metabolic activity and oxygen consumption in ectotherm (Guderley & Johnston, 1996; Blier et al., 2014). At high

temperature, cardiac mitochondria can no longer increase the ATP production required for myocardial contractility and cellular ion homeostasis (Hochachka, 1994) likely leading to heart failure. Then, there is an imbalance between the increase in energy demand at higher temperature and the capacity of the mitochondria to supply ATP. Impaired mitochondrial efficiency can be explained by a failure of metabolic enzymes, mitochondrial complex or Electron Transport System (ETS) leading to a reduced capacity of oxidative phosphorylation (Iftikar & Hickey, 2013). Another possible cause of mitochondrial dysfunction at high temperature is the efflux of reactive oxygen species (ROS) leading to oxidative stress (Madeira et al., 2013; Vinagre et al., 2012). ROS efflux tend to increase in arctic charr heart mitochondria when they reached their critical thermal limit (Christen et al., 2018). ROS are known to injure biomolecules, and particularly the phospholipids of cell membrane, through lipid peroxidation (Hulbert et al., 2007; Niki, 1987; Zuo et al., 2015). It therefore appears that fatty acid composition of mitochondrial membrane phospholipids can partly modulate mitochondrial ATP production, and presumably the limits of thermal tolerance in ectotherms (Hulbert & Else, 1999; Hulbert et al., 2007).

Membranes composition is crucial for proper maintenance of functions and activity of membrane-bound enzymes and for control of mitochondrial transmembrane proton leak (Brookes et al., 1998; Kraffe et al., 2007). Hulbert and Else (1999) described membranes as pacemakers of metabolism. They hypothesize a strong correlation of the content of polyunsaturated fatty acids (PUFA) with the activity of membrane's proteins (Hulbert & Else, 1999; Hulbert et al., 2007). Physical and chemical properties of the membrane modulate activity of enzymes and protein complexes for oxidative phosphorylation (Xu et al., 2021), passive permeability of small molecules by transmembrane pumps (ex.  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^{+}$ ) (Shinoda, 2016), supercomplex assembly (Bogdanov et al., 2008) and inner membrane cristae formation and integrity (Mileykovskaya & Dowhan, 2009; Szeto, 2014; Schlame & Ren, 2009). Ectotherms have the capacity to regulate fatty acyl composition of their membrane phospholipids according to thermal environment by restructuring polar headgroup composition and modulating unsaturation and length of hydrocarbon chains (Hazel, 1995; Ernst et al., 2016). Acclimation to warm temperature showed an increase in saturated fatty

acids (SFA) and a decrease in PUFA in the heart of European perch (*Perca fluviatilis*) (Ekström et al., 2017) while alewives (*Alosa pseudoharengus*) need high levels of PUFA in membrane lipids to survive cold winter (Snyder & Hennessey, 2003). These adaptations, called homeoviscous adaptations, allow ectotherms to maintain the fluidity and permeability of their membrane to ensure an adequate homeostasis of the metabolic and physiological processes at their environmental temperatures (Hazel & Williams, 1990; Dey et al., 1993; Wallaert & Babin, 1994; Skalli et al., 2006). Membranes are therefore dynamic structures that can respond to the environmental temperature. Membrane lipids are, however, vulnerable to ROS attack through fatty acid peroxidation affecting fluidity and permeability, and resulting in a loss of structural and functional integrity (Chen & Yu, 1994; Szeto, 2014). The PUFAs are known to be much more susceptible to peroxidation than monounsaturated (MUFAs) and SFA due to their high content of double-bonded carbons, and their peroxidation products can continue to cause more damage if they are not neutralized by antioxidant defences (Yin et al., 2011). Membranes with a lower peroxidation index (an index of ROS susceptibility based on the relative content of the different fatty acids) are associated with a high resistance to oxidative damage (Ekström et al., 2017) and a longer lifespan in bird, mammal, fish and bivalve (Hulbert et al., 2007; de Costa et al., 2020; Munro & Blier 2012). It is therefore suspected that a membrane that are robust to lipid peroxidation could also be associated with high thermal tolerance and especially with a high upper thermal limit, knowing that ROS efflux rises near critical thermal maximum limit. It is consequently relevant to study to which extent the fatty acid profiles and the proportion of PUFAs in cellular and mitochondrial membranes are associated with resistance to oxidative stress and tolerance to temperature increase.

In the context of global climate change, it becomes important to explore physiological traits and metabolic functions that may dictate thermal sensibility of ectotherm and can explain the variability of upper limit of thermal tolerance observed between species and within a species. Studying the variability and the heritability of these traits will be critical to estimate the survival potential of populations and to anticipate the adaptability of species in the face of environmental change. The purpose of this study is to explore the relationship

between cellular and mitochondrial membrane's fatty acid profiles and upper thermal limits in brook charr (*Salvelinus fontinalis*) to identify for possible physiological traits explaining the thermal tolerance variability inside this species. As the robustness of the heart's mitochondrial membrane to oxidative stress has been associated with the thermal tolerance, we decided to focus on heart tissue, but for comparison purpose we also studied blood and brain tissues. Two populations of brook charr from different origins were studied: one from a domesticated population, and another harvested in a natural habitat. These populations should allow us to determine whether the variability of fatty acid profiles explain the divergences of upper thermal tolerance observed among individuals of the same line (inter-individual) and between populations. It is relevant to compare two groups of the same species but with different origins as they might express different phenotypes and might allow a better resolution in linking key physiological traits associated with tolerance to thermal stress. Not being exposed to the conditions of wildlife and raised under controlled conditions for many generations, the farmed fish no longer face environmental stress, and natural selection become less effective to pass on advantageous traits. Even captivity alone reduces fitness of fish if returned in the wild like seen in salmonids (Mäkinen et al., 2014; Fraser, 2008; Milot et al., 2013). Selection for greater growth rate causes higher incidence of cardiovascular failure in farmed fish stocks, leading to an increase in mortality (Poppe et al., 2003; Gamperl & Farrell, 2004). Understanding what makes fish more capable of facing thermal stress might also help to create lineages that will better resist to disease and produce healthy fish. It is known that stress lower the resistance of fish to disease and infection (Raman et al., 2013; Mateus et al., 2017).

## **1.5 MATERIALS AND METHODS**

### **1.5.1 Fish**

Brook charr were obtained from « Pisciculture des Monts-de-Bellechasse » (Saint-Damien-de-Buckland, Qc). They come from the Baldwin strain and weigh between 250 and 300 grams. Fish were kept at « Station Aquicole of the Institut des Sciences de la Mer » (Pointe-au-Père, Qc). They were maintained in freshwater 190 liters tanks with a constant renewal of new water and a 12h light/dark cycle and were fed *ad libitum* with a commercial feed (Orient LP 18 50A 6 mm, Skretting) every 10 days. All fish were acclimated at 11 °C at least two months before the experiment. Animal manipulation was conducted in accordance with the Institutional Animal Care Committee of Université du Québec à Rimouski (protocol #CPA-67-16-181 (R1)). Another group of brook charr was captured in two rivers, Rimouski and Berry, at the « Réserve faunique de Rimouski » (Saint-Narcisse-de-Rimouski, Qc). These rivers were chosen because they did not ever receive fish stocking in the past. It was important for the experiment that brook charr were from wild strains. They were also brought back to the Station Aquicole and were kept under the same condition as farmed brook charr. They were submitted to a two weeks quarantine to prevent diseases and parasites before they were moved in the same room as farmed brook charr. Captured wild fish were relatively smaller than the previous farmed. Capture and maintenance in captivity was authorized by a permit SEG requested from the « Ministère des Forêts, de la Faune et des Parc » (#2019042400301SP) and by the « Comité de protection des animaux de l'Université du Québec à Rimouski » (#CPA-67-16-181(R1)).

### **1.5.2 Conditions before the experiments**

For the first experiment, we used 240 farmed brook charrs. They were randomly divided into four groups and kept in tanks at 11 °C (60 fish/tank). All fish were identified with PIT-Tag (Biomark, ID, USA) put on slightly below the dorsal fin. For two weeks, two

tanks experienced daily one variation in water temperature (increase from 11 °C to 16° C in one hour followed by a decrease from 16° C to 11 °C in one hour, once a day) while the other tanks remained at a stable temperature of 11 °C. This thermal variation stands in the range of the optimal temperature for growth and activity of brook charr (MacCrimmon & Campbell, 1969). The purpose of these variations is to induce stress and possibly higher variability of critical thermal maximum (CTmax). Fish were starved 72 hours prior to experiments. For the second experiment, we used a mix of 21 farmed and 29 wild brook charr. All fish (50 individuals) were put in the same tank and exposed to 11 °C for two weeks before the experiments started. They were not exposed to daily thermal variation. In this second experiment, we used farmed brook charr with similar size and weight than the wild fish to avoid the bias due to a size effect.

### **1.5.3 Temperature challenge test (TCT)**

The TCT was adapted from Christen et al. (Christen et al., 2018). TCT allows to obtain CTmax of each individual fish. CTmax are widely used to measure thermal tolerance in fish (Becker & Genoway, 1979; O'Donnell et al., 2020; Roze et al., 2013). TCT were started by increasing temperature rapidly from 11 °C to 27 °C in three hours followed by a slower increase of 0.5 °C per hour until the end of the experiment. Fish were instantly removed from the tank after a loss of equilibrium and transferred into a tank at 11 °C for recovery. Temperature (CTmax) and time at which the fish was removed (time to CTmax, tCTmax) were noted. The oxygen concentration was kept above 80% saturation with an air bubbler and checked with an oximeter throughout the experiment. Water temperature was controlled with an electrical water heater (Model C Digital, Val Therm). A first TCT was carried out with the first group of farmed brook charr in November 2018 and a second TCT was conducted with the wild ones and the second group of farmed fish in November 2019. TCT and experimental conditions were repeated twice for each tank of farmed fish of the first TCT to ensure the robustness of the test. After the first TCT, the two weeks of conditioning (with

temperature variation or not) were repeated. The second TCT was performed at the end of these two weeks. We kept the same fishes in the same tanks for the repeated TCT. This test is repeatable according to our data (unpublished data) and previous studies (Morgan et al., 2018; O'Donnell et al., 2020).

#### **1.5.4 Sampling**

Before the experiment, six fish per tank were randomly sampled to serve as control. Another sampling was done a week after the TCT to let the fish return to an initial physiological state (not showing the impact of an acute heat stress response). A total of 18 brook charrs were sampled in each tank including six individuals that better performed (higher CT<sub>max</sub> or exposure time), six others among those with a low performance and six others among those with average performance at TCT. This method of sampling allowed us to have a good representation of the variability of CT<sub>max</sub> within populations.

#### **1.5.5 Tissue harvest**

Brook charr were killed by exsanguination via cardiac puncture under anesthesia. Blood plasma was immediately separate from blood by centrifugation (1500 g, 4° C, 10 min) after the addition of sodium citrate 3.8%, an anticoagulant, in a ratio of 1:9 (sodium citrate: blood). Blood plasma was separated into aliquots. The rest of the blood containing erythrocytes was also kept. Heart was removed and rinsed in 100 mM pH 7.6 saline phosphate buffer then grinded and separated into aliquots. Brain was removed and has been frozen. All samples were frozen in liquid nitrogen and stored at -80 °C. Total length and weight of each individual were measured immediately before they were killed.



### **1.5.6 Mitochondrial isolation**

Mitochondrial isolation was performed on heart and brain samples. Each sample was grounded with a razor blade and transferred to a tight-fitting Teflon/glass homogenizer in 6 ml of isolation medium (300 mM sucrose, 0.2 mM EDTA, 10 mM HEPES, 0.1% fatty acid free bovine serum albumin (BSA), pH 7.2) for homogenizing. The solution was then centrifuged for 10 min at 1000 g (4° C). The supernatant was centrifuged for 10 min at 1000 g (4° C) to remove the rest of the largest particles. The pellets from the first two centrifugations (cell debris) were stored and frozen at -80 °C. The supernatant was centrifuged again for 15 min at 10 000 g (4° C). After this third centrifugation, the pellet was resuspended in 3 ml of isolation medium and centrifuged for 15 min at 10 000 g (4° C). The final pellet (enriched in mitochondria) was resuspended in 75 µl of isolation medium and frozen at -80 °C for further analysis. This protocol was an adapted version of Christen et al. (2018), Ignacio et al. (2016) and Martinez et al. (2013). The purity of the enriched fraction of mitochondria was evaluated by comparing the activities of cytochrome c oxidase in the mitochondrial rich fraction and in the cellular debris collected after the first two centrifugations.

### **1.5.7 Fatty acid transmethylation**

The direct transesterification method used for fatty acid transesterification of all tissues was adapted from Christen et al., (2020), Ekström et al., (2017) and Lepage & Roy (1984). At least 50 µl of sample were spiked with 10 µl of a tricosanoic acid solution (0.1mg/1ml) (NU-CHEK PREP, Elysian MN, USA) and 500 µl of toluene was added. Samples were sonicated for 1 min to break cells. Direct trans-methylation was performed by adding 3 ml of 10% sulfuric acid methanol solution at 90 °C for 1 h in a dry bath. Samples were subsequently cooled to 4° C and 3 ml of water was added. Fatty acid methyl esters (FAMES) were extracted by adding 500 µl of hexane followed by centrifugation at 2000 g for 10 min

at room temperature. The supernatant was transferred in a vial and frozen at -80 °C for further analysis.

### **1.5.8 Gas chromatography conditions**

FAMEs were separated and quantified by gas chromatography (Trace Ultra 100, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) using a 60 m x 0.25 mm i.d. capillary column (DB-23, Agilent Technologies Canada, Mississauga, ON, Canada). Helium was used as carrier gas (230 kPa constant pressure), and temperature vaporization was set at 230 °C with a split injection of 100 ml min<sup>-1</sup>. Temperature programming was from 50 °C to 140 °C (heating rate: 25 °C min<sup>-1</sup>), followed by an increase to 180 °C (heating rate: 3 °C min<sup>-1</sup>) at which the temperature was maintained for 10 min, followed by a final increase to 225 °C (heating rate: 3,5 °C min<sup>-1</sup>) which was maintained for 5 min. Individual methyl esters were identified by comparison with known standards (Supelco 37 Component FAME mix, Sigma-Aldrich). The amount of each fatty acid is expressed as a relative percentage for each sample.

### **1.5.9 Statistical analysis**

Peroxidation index (PI) and unsaturation index (UI) were calculated according to Hulbert et al., (2007). We used tCTmax instead of CTmax in our statistical analysis because we had values with greater variability. It was easier to observe trends since we get a larger amplitude of our values on the y-axis (tCTmax) of our regressions. We used the mean of tCTmax for individuals whose TCT was performed in replicate. No significant interaction was found between body mass and tCTmax in our populations (unpublished data).

Correlations between tCTmax and fatty acid profile for farmed and wild brook charr were firstly checked separately in a mixed model of multilinear regression with tCTmax and experimental condition as fixed effect and tanks as random effect. Experimental condition

and tanks did not have a significant impact on the result and were not considered. Correlations were finally analyzed and shown in simple linear regressions. Homogenization and normality were tested using visual inspection of residuals in a normal quantile plot and Shapiro-Wilk. Farmed fish from the second TCT were more of the same body mass as wild fish. For the correlations, we pooled farmed fish from the first and second TCT together to add fish with a body mass similar to wild fish.

Dissimilarity between fatty acid profiles of different tissues of the two groups of farmed fish and the group of wild fish were tested using a one-way ANOVA ( $p$ -value  $< 0.05$ ) followed by a Tukey HSD test. Instead of a one-way ANOVA, we used a Welch's ANOVA with Games-Howell post-hoc test for fatty acids with unequal variance or a non parametric Kruskal-Wallis test with Dunn's test when the assumptions of one-way ANOVA test were not met. All values are reported as mean with standard error of mean ( $\pm$  SEM). Statistical tests have been performed using R.

## **1.6 RESULTS**

### **1.6.1 Fatty acid profiles in association with thermal tolerance in farmed and wild brook charr.**

A significant correlation was found between omega-3/omega-6 ratio (n-3/n-6) ( $p = 0.0106$ ,  $R^2 = 0.0935$ ), total omega-6 content ( $p = 0.022$ ,  $R^2 = 0.0759$ ), ARA ( $p = 0.0213$ ,  $R^2 = 0.0767$ ), with tCTmax in heart mitochondria of farmed brook charr (figure 6). In farmed fish, an individual with a high tCTmax has a higher n-3/n-6 ratio and a lower proportion of total omega-6 content and ARA. However, only the negative correlation between ARA and tCTmax in the same tissue was significant in wild brook charr ( $p = 0.0473$ ,  $R^2 = 0.407$ ). The correlation between ARA and tCTmax become more stronger with the increase of ARA content in heart mitochondria. Total n-6 content ( $p = 0.736$ ,  $R^2 = 0.0151$ ) and n-3/n-6 ratio ( $p = 0.668$ ,  $R^2 = 0.0242$ ) did not show any significant relationship in wild fish.

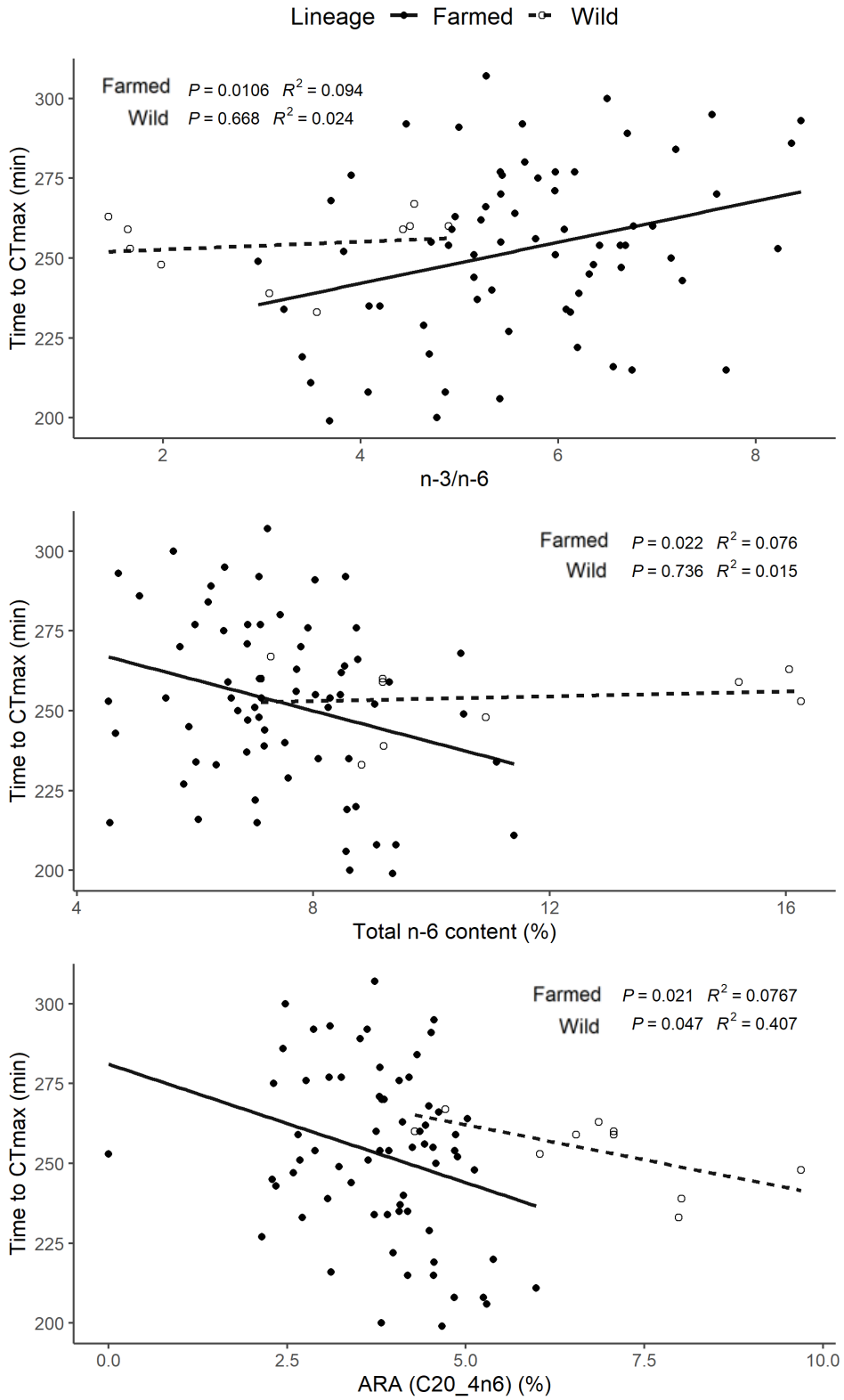


Figure 6. Thermal tolerance (tCTmax) is partly explained by fatty acid profile in heart mitochondria of farmed (full circles) and wild (empty circles) brook charrs. Probability values are from simple linear regressions with the following equation: tCTmax (min) = 6.44x + 216.36 and tCTmax (min) = 1.22x + 250.21 for n-3/n-6 ratio; tCTmax (min) = -4.871x + 288.93 and tCTmax (min) = 0.376x + 249.99 for total n-6 content; tCTmax (min) = -7.42 x + 281.09 and tCTmax (min) = -4.39 x + 284.07 for ARA from farmed and wild brook charr respectively. Values of fatty acids are expressed as percentage of total fatty acid methyl esters (%)

In blood plasma, we observed the same negative correlation between ARA and tCTmax ( $p = 0.0151$ ,  $R^2 = 0.0734$ ) found in heart mitochondria of farmed brook charr (figure 7). This relationship was not significant for the wild fish ( $p = 0.147$ ,  $R^2 = 0.244$ ).

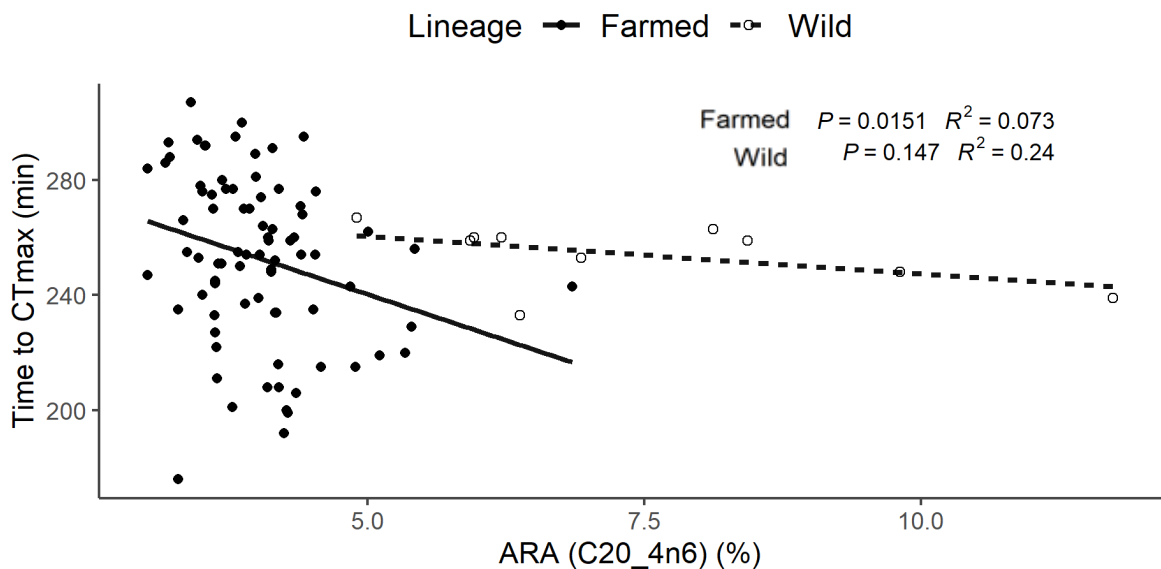


Figure 7. Thermal tolerance (tCTmax) is partly explained by fatty acid profile in blood plasma of farmed (full circles) and wild (empty circles) brook charrs. Probability values are from simple linear regression with the following equation: tCTmax (min) = -12.79 x + 304.3 and tCTmax (min) = -2.59 x + 273.33 for farmed and wild brook charr respectively. Values of fatty acids are expressed as percentage of total fatty acid methyl esters (%)

### **1.6.2 Fatty acids profiles of farmed and wild brook charr.**

We observed a difference in body mass between the farmed fish of the first TCT and the wild and farmed fish from the second TCT (Table 1). Wild brook charr had a wider range of body mass than the farmed fish. They have a coefficient of variation of 26.71% while farmed fish from the first and second TCT have a coefficient of variation of 2.86% and 8% respectively. We wanted to add smaller farmed fish to the group of wild fish to compare two populations with closer body mass values. Also, we did want to see if there were going to be an effect of body mass on the tCTmax since we would end up comparing larger fish with smaller ones (farmed fish of the first and second TCT). We detected no significant difference in heat stress resistance between the farmed and the wild fish whether we look at the CTmax or the tCTmax. When looking at the two groups of farmed fish that did not undergo TCT in the same year, we observed a significant difference in CTmax and tCTmax. Farmed fish from the second TCT had a tCTmax significantly lower than the wild fish and the farmed fish from the first TCT.

Heart mitochondria fatty acid profiles were not identical between the farmed and the wild brook charr even if they were maintained in the same conditions for at least two months. The two groups of farmed brook charr had significantly greater proportion of omega-6 and ARA (C20:4n6), and lower omega-3/omega-6 ratios (n-3/n-6). The groups of farmed and wild brook charr of the second TCT showed some similarity even if they did not come from the same environment. They had the same proportion of docosahexaenoic acid (DHA, C22:6n3), docosapentaenoic acid (DPA, C22:5n3), SFA, PUFA and omega-3. PI and UI of the farmed and wild fish from the second TCT were the same but were significantly different from the first TCT (Table 1).

Table 1. Comparison of fatty acids profile of farmed and wild brook charr of the two TCT in heart mitochondria. Values are expressed as percentage of total fatty acid methyl esters (%)

Fatty acids (%)	First TCT			Second TCT					
	Farmed			Farmed			Wild		
	Mean	± SEM		Mean	± SEM		Mean	± SEM	
C14	0.54	0.06	a*	1.42	0.07	b	1.06	0.11	b
C16	23.10	0.35	a	25.80	0.88	b	26.30	0.70	b
C16_1	1.13	0.09	a	1.35	0.25	a	1.39	0.30	a
C18	6.07	0.18	a	9.16	0.74	b	9.73	0.76	b
C18_1n9c	13.60	0.32	a	13.60	0.95	a	13.80	1.53	a
C18_1n7	2.94	0.09	a	2.78	0.26	a	3.38	0.16	a
C18_2n6c	3.57	0.13	a	3.56	0.84	a	3.80	1.17	a
C20_4n6 (ARA)	3.85	0.13	a	3.63	0.40	a	6.83	0.50	b
C20_5n3 (EPA)	3.49	0.17	a	4.12	0.61	a	3.24	0.45	a
C22_5n3 (DPA)	2.97	0.12	a	1.02	0.21	b	2.04	0.35	b
C22_6n3 (DHA)	34.40	0.50	a	24.00	1.39	b	21.80	1.25	b
C24_1n9	0.15	0.03	a	0.70	0.25	b	0.37	0.12	ab
Σ SFA	33.10	0.47	a	40.30	1.90	b	39.00	1.66	b
Σ MUFA	18.20	0.37	a	19.50	1.31	a	19.40	1.90	a
Σ PUFA	48.70	0.54	a	40.30	0.94	b	41.60	1.70	b
Σ Omega-3	41.20	0.52	a	33.10	0.88	b	30.60	2.17	b
Σ Omega-6	7.47	0.18	a	7.19	0.85	a	10.90	1.13	b
n-3/n-6	5.71	0.15	a	5.08	0.69	a	3.17	0.44	b
PI	334.00	4.18	a	253.00	9.14	b	249.00	12.90	b
UI	281.00	2.97	a	224.00	6.79	b	225.00	8.85	b
CTmax (°C)	28.00	0.05	a	27.40	0.08	b	27.80	0.05	b
Time to CTmax (min)	255.00	3.36	a	231.00	4.64	b	254.00	3.46	a
Body mass (g)	250.00	7.15	a	54.90	4.39	b	161.00	43.00	b
N	62			7			10		

\*Dissimilar letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) between groups.

We did not observe any correlation between tCTmax and fatty acids in heart cell debris, brain mitochondria and cell debris, blood plasma and erythrocyte. However, there were some differences in the fatty acid profiles between the three groups in other tissues (table 2). We

noticed that the proportion of ARA was significantly higher in wild fish than in the two groups of farmed fish in all the tissues we sampled. The n-3/n-6 ratio in heart cell debris was higher in farmed fish of the first TCT than the wild fish like we observed previously in heart mitochondria. In brain cell debris and mitochondria, and in erythrocytes, we also noticed that DPA (C22\_5n3) proportions were significantly higher in the wild population compared to farmed fish of the first TCT. We detected that PI was significantly lower in fish from the first TCT than fish of the second TCT in brain cell debris and mitochondria, particularly explained by a higher proportion of MUFA and a lower proportion of PUFA in fish from the first TCT. In heart and blood plasma, we observed the opposite fact, PI were higher in fish from the first TCT.

Table 2. Comparison of fatty acids profile of farmed and wild brook charr of the two TCT in heart cell debris, brain mitochondria and cell debris, blood plasma and erythrocytes.

Values are expressed as percentage of total fatty acid methyl esters (%)



Fatty acids (%)	First TCT			Second TCT					
	Farmed			Farmed			Wild		
	Mean	± SEM		Mean	± SEM		Mean	± SEM	
<b>Heart cell debris</b>									
C20_4n6 (ARA)	3.63	0.11	a	4.29	0.60	a	6.90	0.45	b
C22_5n3 (DPA)	2.96	0.13	a	1.52	0.25	b	2.54	0.46	ab
n-3/n-6	5.55	0.26	a	4.76	0.71	ab	3.90	0.49	b
PI	330.00	5.19	a	273.00	11.10	b	271.00	24.60	ab
N	63			8			10		
<b>Brain mitochondria</b>									
C20_4n6 (ARA)	1.64	0.05	a	1.55	0.04	a	2.50	0.26	b
C22_5n3 (DPA)	1.72	0.04	a	1.90	0.12	ab	2.29	0.15	b
Σ MUFA	25.20	0.47	a	21.00	0.65	b	20.50	0.66	b
Σ PUFA	42.50	0.38	a	46.50	0.71	b	45.80	0.89	b
PI	314.00	3.77	a	345.00	4.88	b	340.00	7.31	b
N	69			8			10		
<b>Brain cell debris</b>									
C20_4n6 (ARA)	1.78	0.03	a	1.65	0.04	a	2.82	0.26	b
C22_5n3 (DPA)	1.64	0.02	a	1.91	0.10	ab	2.18	0.15	b
Σ MUFA	35.50	0.54	a	27.20	1.12	b	27.90	1.25	b
Σ PUFA	35.50	0.37	a	42.40	1.20	b	40.90	1.07	b
PI	251.00	4.23	a	310.00	8.27	b	296.00	8.90	b
N	70			8			10		
<b>Blood plasma</b>									
C20_4n6 (ARA)	3.94	0.06	a	4.73	0.40	b	7.44	0.66	c
C22_6n3 (DHA)	27.30	0.35	a	20.40	1.74	b	21.80	2.41	b
C22_5n3 (DPA)	2.33	0.07	a	1.45	0.37	b	3.22	0.79	a
Σ Omega-6	11.40	0.22	a	10.70	1.73	ab	9.20	0.74	b
PI	297.00	2.65	a	225.00	21.10	b	264.00	29.50	ab
N	72			8			10		
<b>Erythrocyte</b>									
C20_4n6 (ARA)	5.33	0.08	a	6.14	0.33	b	10.10	0.79	c
C22_5n3 (DPA)	2.05	0.06	a	2.12	0.46	a	3.80	0.60	b
Σ Omega-6	8.62	0.14	a	8.56	0.82	a	12.00	1.09	b
n-3/n-6	5.66	0.12	a	5.51	0.55	ab	4.03	0.57	b
PI	389.00	2.92	a	365.00	10.70	a	365.00	15.30	a
N	63			8			10		

\*Dissimilar letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) between groups.

## 1.7 DISCUSSION

### 1.7.1 Fatty acids profiles and thermal tolerance in brook charr.

This study revealed correlations between the proportion of certain fatty acids in phospholipids and the tCTmax in brook charr that can partly explain the variability of thermal tolerance inside this species. Higher n-3/n-6 ratio in heart mitochondrial membrane is associated with a higher tCTmax in farmed brook trout. This correlation seems to be dictated by the total omega-6 content since it is negatively correlated with tCTmax, while the total or individual omega-3 content (eicosapentaenoic acid (EPA), DPA or DHA) are not linked to thermal tolerance. Total omega-6 content is strongly led by the proportion of ARA in our data. Recent study showed negative correlations of PI, total omega-3 content and EPA with CTmax in arctic charr, brook charr and their hybrids (Christen et al., 2020). In the present study, we only observed that ARA content is associated with the determination of the upper thermal limit in farmed and wild brook charr.

We wanted to test the hypothesis that the susceptibility of heart mitochondrial membranes to oxidative stress dictates the upper limit of thermal tolerance. Previously, in the study by Christen et al., (2020), a high CTmax was associated with a low PI in heart mitochondrial membranes in salmonid species. This robustness against lipid peroxidation of heart mitochondrial membranes has been associated with high thermal tolerance. Indeed, fish with a low PI would be able to better resist the observed increase in ROS efflux at high temperature. A low PI in membranes has been also associated with better resistance to oxidative stress in aging studies in bivalves (Munro & Blier, 2012) and in warm-acclimated fish (Ekström et al., 2017). Fatty acid profiles of membrane, particularly PUFA content, was hypothesized to be a determinant of longevity for the reason that PUFAs are more disposed to peroxidation which amplifies oxidative stress (Blier et al., 2017; Hulbert et al., 2007). Fatty acids profile of different classes of phospholipids are also important in resistance to

oxidative stress. Phospholipids composition is involved in maintaining the integrity of membrane and particularly cristae (Cogliati et al., 2016) and supercomplex structures (Rodríguez et al., 2022). For example, a localized concentration of cardiolipins at the cristae junction is involved with the presence of some specific proteins, in mitochondrial cristae organization (Ikon & Ryan, 2017; von der Malsburg et al., 2011). Due to their structure, cardiolipins contribute to the shape of cristae folds by bending the membranes or promoting ATP synthase dimerization (Boyd et al., 2017; Acehan et al., 2011). These cristae are also a proton trap for building transmembrane proton motive force for oxidative phosphorylation (Haines & Dencher, 2002). During stress, fatty acids of cardiolipins can be oxidized by ROS causing disruption of the structural and functional integrity of the respirosome and ATP synthase, and promoting cytochrome c release and apoptosis (Panov & Dikalov, 2020; El-Hafidi et al., 2020). The cardiolipins with the highest proportion of PUFA are thus the more susceptible to peroxidation. It is preferable to have a low PUFA content in cardiolipins to lower PI to get a better resistance to oxidative stress of this class which is essential in maintaining mitochondrial functions. In our results, we did not observe a significant relationship between PI and tCTmax, which suggests that other mechanisms are involved in determining the performance of brook charr at high temperatures.

Phospholipid unsaturation is not correlated with tCTmax in our results, whereas we had predicted a low unsaturation in individuals performing a higher tCTmax. A lower unsaturation of membrane is needed at high temperature to maintain a good membrane fluidity and thereby to keep membranes working properly (Hazel & Williams, 1990). In addition to the robustness of membrane to resist oxidative stress, the ability to maintain a good membrane fluidity had also an impact on the determination of CTmax. Ekström et al. (2017) observed a decrease in unsaturation in heart of European perch following acclimatization to high temperatures. We did not observe a correlation between UI and tCTmax, but it is known that unsaturation is not the only responsible for a low or high membrane fluidity that can affect performance of fish at high temperature. Proportions of different classes of polar lipid also modulate membrane fluidity like seen in cardiac mitochondria and myelin of Antarctic notothenioid fishes (Biederman et al., 2019a, 2019b).

Phosphatidylcholine tend to have a higher fluidizing impact within membranes compared to phosphatidylethanolamine (Fajardo et al., 2011). Unsaturation and proportion of each polar lipid classes have an impact on the bioenergetics of the mitochondria due to their ability to modulate membrane fluidity. The degree of polyunsaturation in membrane is positively associated with the activity of enzyme-protein complexes and will therefore influence the efficiency of oxidative phosphorylation (Else & Hulbert, 1987; Hulbert & Else, 1990; Brand et al., 1991). A low PC/PE ratio is known to increase mitochondrial respiration and ATP synthesis (van der Veen et al., 2017). It seemed that neither membrane unsaturation and PI were related to the establishment of thermal tolerance limits in our study, even though their implication in membrane resistance to oxidative stress and in modulating oxidative phosphorylation.

### **1.7.2 Heart mitochondria involved in thermal tolerance**

Thermal sensitivity seemed to be strongly related to heart and particularly to mitochondrial functions in heart. According to our data, we found correlations explaining tCTmax only in heart mitochondrial membrane. In the present study, we focused on the relation of heart mitochondrial membranes fatty acid profiles with tCTmax because of previous results on study on Arctic charr (Christen et al., 2018), but we also investigate fatty acid profiles in other organs, and in non-mitochondrial membranes (cellular debris). Still, we found no evidence of any relation with upper thermal limits in other tissues. Majority of ROS that are produced in mitochondria are generated by the ETS located in the inner membrane of the mitochondria and release in the mitochondrial matrix (Brand, 2010), making mitochondrial membranes hypothetically more prone to lipid peroxidation than remote membrane (ex. cell membrane) due to their proximity to major ROS production sites. A study with bivalves suggested that mitochondrial membranes are more protected against lipid peroxidation because they observed that PI decreased more rapidly with increasing longevity in mitochondrial membrane than any other membranes (Munro & Blier, 2012). This points

out the heart and particularly heart mitochondria as a weak step of bioenergetics during acute warming, like seen in other studies (Somero, 2010; Iftikar et al., 2014; Iftikar & Hickey, 2013).

Brain responds to temperature changes and has a certain capacity for acclimatization (Crispo & Chapman, 2010; Toli et al., 2017). A previous study has revealed that the brain responds similarly to the heart but with more sensibility to temperature (at low and high temperature) in *Fundulus heteroclitus* (Chung et al., 2017). Their finding suggests that performance of heart mitochondria would be saved to maintain the performance of the whole animal during temperature changes, and that brain mitochondria dysfunction occurs at lower temperatures compared to the heart mitochondria. The brain fatty acids composition has been seen to be very little affected by diet or seasonal acclimation in most ectotherms (Hundal et al., 2021; Sissener et al., 2016; Yan & Xie, 2015; Bourre et al., 1993; Z erouga et al., 1991) and highly conserved. It was observed that neural tissue has a high capacity to mobilize DHA content despite n-3 deficiency in diet to maintain optimal neural and visual tissue functions (Skalli et al., 2006; Lauritzen et al., 2001). Despite the good leads, the brain does not seem to be involved in determining upper thermal limits in our study by the lack of significant correlation between the different proportions of fatty acids and the tCTmax.

### **1.7.3 Arachidonic acid and thermal tolerance**

According to our results, a low proportion of ARA in heart mitochondria of farmed and wild brook charr and in blood plasma of farmed brook charr is partly associated with higher upper thermal limit. The correlation between ARA and tCTmax is stronger in wild fish ( $R^2 = 0.4$ ) than in farmed fish ( $R^2 < 0.1$ ) in heart mitochondria. Wild fish are used to experience changes in their environmental conditions unlike farmed fish, which are raised in much more stable conditions. We suggest that wild fish have a better ability to optimize their lipid profile to better respond to environmental stresses. In farmed fish, this ability may have been lost due to a relaxation of selection since farmed populations are raised from generation to

generation under stable conditions. Farmed brook charr no longer face environmental stresses and natural selection becomes less efficient at transmitting advantageous traits. We propose that this looseness could explain the greater dispersion of tCTmax ( $R^2$ ) in the farmed population.

ARA appears to be an important modulator of physiological functions such as growth, reproduction, stress resistance, pigmentation, immunity, lipid deposition and bone development in fish (Xu et al., 2022). This fatty acid is known to modulate lipid metabolism in juvenile striped bass and a deficiency of this PUFA decrease their body mass and impair their survival (Araujo et al., 2021). Researchers have demonstrated that ARA promoted a better reproductive performance in blue gourami by increasing fecundity, oocytes and yolk sac diameter (Asil et al., 2017). In addition to its importance in growth and reproduction, ARA seemed to play a protective role in fish during stress events. ARA supplementation has been proved to improve growth, survival and resistance to stressful events like handling procedures and metamorphosis in fish larva (Koven et al., 2001; Martins et al., 2012). Another study showed evidence that ARA supplementation was positively correlated with the expression of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase mRNA after a sublethal salinity challenge in black sea bass larvae, promoting its adaptative capacity to respond to hypersalinity stress (Carrier III et al., 2011). The mechanisms responsible for the positive impact of ARA on stress resistance in fish, particularly on larvae and broodstock, are still unknown and will require further research. It is indisputable that ARA is essential in fish (Xu et al., 2022), but at high concentration, it can have adverse effects such as cardiovascular dysfunction and inflammatory induction (Oliva-Teles, 2012). ARA and also EPA are precursors of eicosanoids that are strongly implicated in inflammatory response like prostaglandins, thromboxanes, and leukotrienes. It has been shown that ARA-derived eicosanoids can be abundant in fish, ARA being the preferred substrate for eicosanoids even if EPA is predominant (Tocher, 2003). ARA-derived eicosanoids have been strongly associated with pro-inflammatory activity which has been challenged in more recent studies (Calder, 2009; Nayak et al., 2020; Tian et al., 2019). Some of these eicosanoids can have both pro- and anti-inflammatory properties like prostaglandin E<sub>2</sub>. In fact, this eicosanoid can stimulate

inflammation by increasing blood flow and pain sensitivity in the inflamed tissue (Ricciotti & FitzGerald, 2011) and also inhibit two pro-inflammatory cytokines (tumour necrosis factor (TNF) and interleukin (IL)-1 (Miles et al., 2002). ARA can also trigger an increase in the level of oxidized products of lipids (Adam et al., 2017; Li et al., 2012; Ma et al., 2018) while also mobilizing endogenous antioxidants (Xu et al., 2010; Tian et al., 2017). Thus, the effect of ARA in fish is ambiguous and requires more attention.

We suspect that a low proportion of ARA in heart mitochondria as well as in blood plasma decrease the probability to form ARA-derived pro-inflammatory eicosanoids in fish with a high resistance to stress. A lower proportion of ARA in membrane phospholipids will limit the induction of the inflammatory response during stress. Eicosanoids system is complex and will require further research to investigate this hypothesis. We already know that we can modulate the inflammatory response after an acute stress in fish by modifying feed ratio of n-3/n-6 (Hundal et al., 2021) and that ARA and EPA concentration in macrophage phospholipids will affect eicosanoids production and thus the immune response in fish as seen in Atlantic salmon (Bell et al., 1996). Therefore, inflammatory response might be involved in thermal stress resistance.

Since we observe the same relationship between ARA and tCT<sub>max</sub> in heart mitochondria of farmed and wild fish and in blood plasma of farmed fish, we could suggest, to some extent, blood plasma as a proxy of heart mitochondria in the determination of CT<sub>max</sub>. We could then evaluate, for example, the thermal sensitivity of each individual by the proportion of ARA in blood plasma. In the future, this non-lethal approach (blood sampling) could allow a selection program, in aquaculture, for tolerance of thermal stress and potentially lower susceptibility to disease. More research will be needed before considering this idea.

#### **1.7.4 n-3/n-6 ratio and stress resistance**

Moreover, a high n-3/n-6 ratio in cardiac mitochondria is associated with a higher tCTmax in farmed fish. This result is strongly influenced by a low proportion of ARA in elevated tCTmax fish. Having a high n-3/n-6 ratio is associated with several health benefits in fish as in humans (Siriwardhana et al., 2012; Iribarren et al., 2004; Kalogeropoulos et al., 2010). A high n-3/n-6 ratio improves growth performance and stress resistance in fish and in crustacean (Ahmadi et al., 2017, 2019). A decrease in n-3/n-6 ratio in body tissues has caused cardiac lesions and stress shock syndrome when handling and transportation, leading to mortality increased in post-smolt Atlantic salmon (Bell et al., 1991; Bell et al., 1993). It was also observed that juveniles Dover sole fed with a n-3 long-chain PUFA-deficient diet had higher mortality when exposed to a combination of hypoxic and thermal stress (Logue et al., 2000). Besides, a low n-3/n-6 ratio has been associated with elevated production of eicosanoids and pro-inflammatory cytokines (Patterson et al., 2012; Logue et al., 2000). Both n-3 PUFA, DHA and EPA, occurs in high proportion in fish. DHA is very important for ATP production in stress period and in neural development at larval stage (Abi-Ayad et al., 2004; Lund et al., 2012) whereas EPA is involved in fish immunity. EPA deficiency in diet or an excess in DHA inhibit fish immune functions in Japanese sea bass (Xu et al., 2016). Also, these fatty acids are used as a substrate to form resolvins and protectins which have strong anti-inflammatory properties and help decrease the intensity and duration of inflammation. (Calder, 2017; Siriwardhana et al., 2012). Therefore, previous studies supports that a high n-3/n-6 ratio is beneficial for health and stress resistance in fish and is in agreement with our results that a high ratio is associated with higher tCTmax.

#### **1.7.5 Fatty acids profiles of farmed and wild brook charr.**

We observed a relationship of n-3/n-6 ratio, omega-6 content and ARA with the thermal sensitivity of farmed brook charr. Looking at the heart mitochondria fatty acid



profiles of farmed and wild brook charr and particularly to the three profile components previously correlated to tCTmax (n-3/n-6 ratio, total omega-6 content and ARA), we expected that the farmed population would have the highest tCTmax mean because they have a lesser proportion of ARA and a higher n-3/n-6 ratio. However, thus was not the case. Farmed fish from the first TCT have a similar tCTmax as wild fish. Only the farmed fish from the second TCT have a different tCTmax than the wild fish and the farmed fish from the first TCT. We conclude that fatty acids profile of heart mitochondria cannot explain alone the divergences of thermal tolerance between two populations of the same species even if it partly explains the interindividual variability of thermal tolerance observed inside a population.

Still, these two populations show many differences in their lipids profile even though they were raised in the same conditions and had the same feed for at least two months. The difference observed in the proportion of ARA between wild and farmed populations is repeated in heart cell debris, brain mitochondria and cell debris, blood plasma and erythrocytes. It is interesting to see that, in all the tissues studied, the proportion of ARA remains higher in the wild population. Also, wild fish have a higher proportion of DPA than farmed fish in all tissues studied. This difference in proportion of DPA is known and has been observed in several species of fish. (González et al., 2006; Tarricone et al., 2022; Sérot et al., 1998; Sharma et al., 2010; Grazina et al., 2020). Difference in DPA content between wild and farmed fish is often explained by diet, season, geographical location and environmental conditions (Hossain, 2011), but this does not apply in our study since all fish were raised in the same conditions and fed with the same feed beforehand. We suggest that wild fish would then have a better capacity to synthesize or deposit DPA than farmed fish and that this capacity would have been lost in farmed fish. Wild fish have a lower PI in heart mitochondrial membrane due to a lower DHA content and a higher proportion of MUFA. These characteristics have been associated with a membrane more robust to peroxidation in European perch, *Perca fluviatilis* (Ekström et al., 2017) However, having a more robust membrane did not affect their performance under heat stress in our study, except if we compare only wild fish with the farmed fish from the second TCT.

### 1.7.6 Conclusion

We have found that n-3/n-6 ratio, omega-6 content and ARA are linked to tCTmax in heart mitochondria in brook charr, but these traits cannot explain the tCTmax observed between the two populations. The negative correlation observed between tCTmax and the proportion of ARA in heart mitochondria is the only correlation that applies to both wild and farmed fish and this relationship is much stronger in the wild fish. The correlation between ARA and tCTmax become more stronger with the increase of ARA content in heart mitochondria. It is also the only common result that we obtained with the study by Christen et al. (2020), previously carried out in the same laboratory.

There should be other mechanisms and traits partly explaining the divergences of tCTmax observed between the two populations. For example, the management of oxidative stress and particularly the ability to buffer ROS by antioxidant enzymes such as higher catalase activity in fish exposed to high temperature (Christen et al., 2020; Akhtar et al., 2013) could contribute to the species homeostasis at temperature close to thermal limits (Pörtner 2002). It would therefore be important to explore other physiological traits associated with oxidative stress management like ROS production by ETS, or mitochondrial ROS buffering enzymes and capacity, to test if oxidative stress in heart is a major determinant of thermal stress tolerance as suggested by Christen et al. (2018). Identification of these traits might allow to predict ectothermic population survival and shifts in the geographical distribution, in the context of global climate change.

## CONCLUSION GÉNÉRALE

L'objectif principal de cette étude était d'établir des relations entre le profil lipidique de différents tissus, particulièrement les mitochondries du cœur, et la limite supérieure de tolérance thermique chez l'omble de fontaine afin d'identifier des traits physiologiques expliquant la variabilité de tolérance thermique au sein de cette espèce. Les profils lipidiques du sang, du plasma, du cœur et du cerveau, spécifiquement les fractions enrichies en mitochondries ou les débris cellulaires résiduels de ces deux derniers tissus ont été mis en lien avec la tCTmax de deux populations d'ombles de fontaine, soit une domestiquée et une sauvage. J'utilise le terme « fraction enrichie en mitochondrie », car le protocole choisi pour l'isolation de mitochondrie ne permet pas de récolter un isolat complètement pur en mitochondrie puisque l'on peut y retrouver des fragments d'autres organelles qui y sont restés accrochés. Afin de mieux purifier les mitochondries, un gradient de glucose ou percoll aurait pu être utilisé. Néanmoins, cela demandait trop de ressources et de temps pour permettre la quantité d'isolats mitochondriaux nécessaires aux analyses, ce qui aurait grandement limité la quantité d'individus dans les analyses. Aussi, je me suis assuré de l'efficacité de mon protocole à me fournir des isolats enrichis en mitochondries et des débris cellulaires pauvres en mitochondrie en analysant l'activité de la cytochrome c oxydase (CCO), une enzyme de la phosphorylation oxydative imbriquée dans la membrane interne des mitochondries. Dans le cœur et le cerveau, j'ai obtenu en moyenne 3,34 et 2,67 fois plus d'activité de la CCO respectivement dans les fractions enrichies en mitochondries que dans les débris cellulaires.

J'ai pu associer trois composantes du profil lipidique des mitochondries du cœur au tCTmax chez la population domestiquée : le ratio oméga-3/oméga-6, le contenu total en oméga-6 et la proportion d'ARA (voir figure 8). L'ARA est particulièrement intéressant dans cette étude. En plus d'être liée au tCTmax dans les mitochondries du cœur des deux populations d'ombles, cette même relation est aussi présente dans le plasma des ombles domestiqués. Selon les résultats, un omble de fontaine sera généralement plus performant

face à un stress aigu si celui-ci a un ratio oméga-3/oméga-6 élevé ainsi qu'une faible proportion d'oméga-6 totaux et d'ARA. Ces relations me permettent d'expliquer, en partie, la variabilité de tCTmax présent au sein d'une même population, mais pas celle entre mes deux populations. Les différences observées entre le profil lipidique de la population domestiquée et sauvage ne peuvent pas expliquer le fait que les deux groupes aient le même tCTmax.

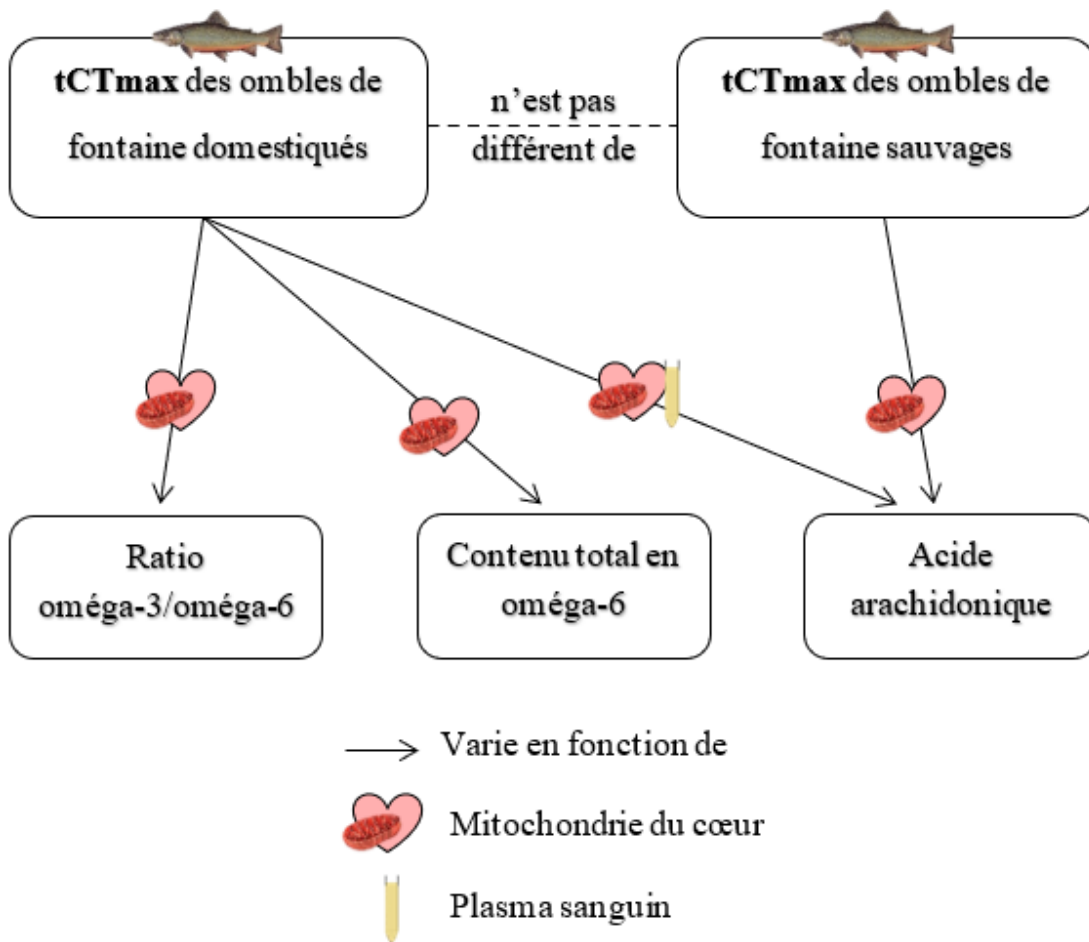


Figure 8. Schéma récapitulatif des principaux résultats obtenus lors de l'étude

Le protocole utilisé pour mesurer la CTmax est assez robuste. Il a été testé deux fois pour chacun des bassins d'ombles de fontaine domestiqués (donc pour chaque poisson) et s'est avéré répétable. La CTmax peut alors être considéré comme un trait relativement stable

propre aux individus chez cette espèce. Plusieurs variables peuvent toutefois avoir influencé nos résultats. Premièrement, le protocole de détermination du CT<sub>max</sub> a été effectué au même moment de l'année pour les deux populations. Cependant, ils n'ont pas été réalisés dans la même année. Deuxièmement, contrairement aux poissons domestiqués qui proviennent du même lot chez un pisciculteur, les poissons sauvages sont de tailles et d'âge aléatoire. La composition lipidique des membranes mitochondriales du cœur et du cerveau semble varier selon l'âge, devenant plus insaturées dans certaines classes de lipides (ex. cardiolipides) et plus susceptibles aux dommages oxydatifs dans le cœur avec la vieillesse (Almáida-Pagán et al., 2012). D'ailleurs, il aurait été pertinent d'évaluer la proportion de chaque acide gras présent dans les différentes classes de phospholipides dans le but d'enrichir davantage l'information que l'on peut obtenir du profil lipidique. Certaines classes de phospholipides, par exemple les cardiolipides et les phosphatidyléthanolamines, ont un rôle important dans le maintien de la structure des mitochondries et ont avantage à ne pas avoir d'acides gras non polyinsaturés afin d'éviter les dommages oxydatifs. Connaître la proportion de chaque classe de phospholipides peut aussi informer sur la fluidité de la membrane puisqu'il n'y a pas juste la composition en acides gras qui y est impliquée. Les phosphatidylcholines offrent une meilleure fluidité à la membrane alors que les phosphatidyléthanolamines vont la rendre plus rigide. Le ratio PC/PE est souvent utilisé comme indice de la fluidité de la membrane (Fajardo et al. 2011; Biederman et al., 2019b). Par ailleurs, la masse des ombles de fontaine sauvages était beaucoup plus variable que celles des domestiques. La masse peut avoir un effet sur la sensibilité thermique des poissons. Par exemple, il a été observé que les truites arc-en-ciel avec une masse supérieure subissent un coût métabolique plus élevé à des températures élevées et sont donc thermiquement plus sensibles que celles avec une petite masse (Rodnick et al., 2004). L'effet de la masse sur nos résultats a été vérifié et elle semble avoir peu d'impact sur les résultats. Durant l'échantillonnage des ombles en rivières, il n'a pas été possible de sélectionner des poissons de même taille et de récolter un effectif aussi grand que celui des ombles domestiques. Il aurait été avantageux d'avoir un nombre plus élevé d'ombles sauvages de manière à renforcer nos corrélations.

Pour de futures recherches, il serait intéressant d'étudier la production d'eicosanoïdes en y associant des marqueurs clés du processus inflammatoire (ex. cytokines interleukines et facteur de nécrose tumorale) avec les profils lipidiques des mitochondries du cœur et du plasma de l'omble de fontaine chez des individus calmes ou stressés. Les eicosanoïdes sont des molécules dérivées de l'oxydation des PUFAs à 20 atomes de carbone comme l'ARA et l'EPA et ils sont également impliqués dans la réponse inflammatoire. Cela nous permettrait de vérifier s'il y a bien une mobilisation de l'ARA et/ou l'EPA pendant un stress, pour induire la réponse inflammatoire, et si on peut observer cette mobilisation dans le profil lipidique. Il serait ainsi possible de lier les marqueurs de l'inflammation à l'utilisation de ces acides gras. Avec ces données, il serait possible de déterminer si les marqueurs du processus inflammatoire et la production d'eicosanoïdes sont également impliqués dans la détermination de la limite supérieure de tolérance thermique. Nous pourrions ainsi tenter de répondre à la question suivante : est-ce qu'un omble de fontaine ayant une réponse inflammatoire moindre, due à une concentration plus élevée de molécules anti-inflammatoires que de pro-inflammatoires lors d'un stress thermique, aura une limite supérieure de tolérance thermique plus élevée ? Comme mentionné ci-haut, l'ARA est négativement corrélé au tCTmax chez les deux populations de poissons et cet acide gras est fortement relié à la production d'eicosanoïdes lors d'une réponse inflammatoire. Il serait donc logique de continuer à explorer cette voie et à tester des hypothèses pour expliquer ce résultat.

Une autre possibilité serait d'analyser les produits d'oxydation des lipides afin de vérifier si une meilleure tolérance à un stress thermique aigu est également associée avec une faible oxydation des acides gras dans les phospholipides membranaires ou potentiellement à un système de gestion efficace de ces produits de peroxydation. Il existe de nombreux produits de la peroxydation des PUFA comme les malondialdéhydes, les hydroperoxydes des lipides, le 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE). Ces produits vont avoir un impact majeur sur la structure des membranes cellulaires lors d'un stress oxydant et peuvent mener à une perturbation des fonctions physiologiques et métaboliques de celles-ci. Par exemple, le 4-HNE aura, en autres, des effets physiologiques et cytotoxiques liés à l'apoptose, l'expression

de cytokines pro-inflammatoires, l'accumulation de  $\text{Ca}^{2+}$  cytoplasmique et l'inactivation et la dysfonction de protéines et modulera le potentiel membranaire mitochondrial (Breitzig et al., 2016; Uchida, 2003). Ces molécules résultantes de la peroxydation ont des répercussions nocives sur le bon fonctionnement des cellules et, particulièrement sur la production d'énergie par les mitochondries, et nuisent à la gestion du stress chez l'organisme. Elles sont couramment utilisées en recherche comme marqueur du stress oxydant (Del Rio et al., 2005; Itri et al., 2014; Breitzig et al., 2016).

Plutôt que d'évaluer la production de ROS et leurs sous-produits par la mitochondrie, il serait aussi pertinent de vérifier la capacité de la mitochondrie à consommer les ROS. Un organisme peut produire une grande quantité de ROS sans subir trop de dommages oxydatifs s'il possède une bonne capacité à les gérer et les rendre inoffensifs. De plus, la production de  $\text{H}_2\text{O}_2$  par la mitochondrie semble être plus sensible aux changements dans la production d'énergie que sa consommation en  $\text{H}_2\text{O}_2$  comme observé dans les mitochondries du muscle squelettique du rat (Munro & Treberg, 2017). Des études récentes ont associé l'efficacité des défenses antioxydantes de la mitochondrie (consommation du  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) avec la longévité chez le rat-taupe nu *Heterocephalus glaber* (Munro et al., 2019) et le bivalve *Arctica islandica* (Munro et al., 2022). Ces espèces avec une longévité exceptionnellement plus longue que leurs espèces cousines ont une meilleure capacité à consommer les ROS. Aussi, des chercheurs ont montré l'existence d'une potentielle inégalité entre la production de ROS dans le muscle rouge de trois espèces de poissons (truite arc-en-ciel, carpe commune et esturgeon jaune) et sa capacité à les gérer par les enzymes antioxydante à haute température (Banh et al., 2016). La production de ROS augmente avec la hausse de la température et, jusqu'à un certain point, les défenses antioxydantes ne sont plus capables de suivre le rythme. Alors, le stress oxydant apparaît et s'amplifie face à un stress thermique aigu chez le poisson. Évaluer la gestion du stress oxydant et particulièrement la capacité de la mitochondrie à réguler la concentration de  $\text{H}_2\text{O}_2$  est une piste intéressante pour dénicher de potentiels déterminants de la tolérance thermique.

L'analyse des plasmalogènes dans le cerveau serait un ajout important, surtout lorsque l'on étudie le stress oxydant. Les plasmalogènes sont des glycérophospholipides constituant 15-20 % du contenu total des phospholipides dans les membranes cellulaires et sont aussi présents dans les membranes d'autres tissus comme le cœur, les neutrophiles, les poumons, les mitochondries, etc. (Braverman & Moser, 2012). Ils jouent un rôle protecteur pour les membranes contre la peroxydation des lipides. Ils sont préférablement oxydés par les radicaux libres par rapport à d'autres glycérophospholipides dus à leur structure. Les produits générés par la peroxydation des plasmalogènes n'ont pas la capacité de propager l'oxydation sur les autres lipides à proximité. Ils mettent donc fin à la réaction en chaîne d'oxydation enclenchée par le stress oxydant dans les membranes cellulaires (Sindelar et al., 1999). Aussi, les plasmalogènes, étant enrichies en acide docosahexaénoïque (DHA) et ARA, sont considérés comme des réservoirs de messagers secondaires puisque ces acides gras sont impliqués dans la réponse inflammatoire. Comme le contenu en phospholipides et en acides gras, ils fluctuent selon les conditions environnementales et physiologiques (Yamaguchi et al., 2002). Je n'ai pas fait ces analyses pour des raisons logistiques. Je n'avais pas assez de tissus pour chacun des individus pour effectuer ces analyses, surtout en raison du protocole d'isolation des mitochondries qui réduisait en deux chaque aliquote de tissu. J'ai voulu privilégier l'optimisation de la quantité de données afin d'améliorer la probabilité d'établir de bonnes corrélations et d'obtenir les profils lipidiques des mitochondries et des débris cellulaires du cœur et du cerveau au lieu de celui de l'organe en entier.

Une intéressante perspective de recherche qui permettrait aussi une belle continuation de mon projet de maîtrise serait de comparer la composition en acides gras des mitochondries du cœur de populations d'ombles de fontaine sauvages à différentes latitudes en y incluant leur CTmax. L'omble de fontaine possède une grande répartition latitudinale en Amérique du Nord s'étendant du nord du Québec au nord de la Géorgie aux États-Unis (United States Geological Survey, 2019) lui permettant de vivre dans des environnements thermiques différents. Les populations nordiques, acclimatées à des eaux plus froides une bonne partie de l'année, sont davantage sensibles aux vagues de chaleur qui deviennent, depuis la dernière décennie, beaucoup plus fréquentes, intenses et longues alors que les populations du sud



vivent déjà à des eaux plus tempérées tout au long de l'année. Ayant cette belle diversité de régimes thermiques, il est possible d'assumer que cette espèce possède des populations avec des CTmax différents. Il serait alors intrigant de comparer leur composition lipidique afin d'examiner si celle-ci reflète les différences de CTmax observées chez les différentes populations. De cette manière, il sera réalisable d'explorer des traits physiologiques responsables de la sensibilité thermique de cette espèce et d'évaluer comment ces traits changent d'une population à une autre. L'étude de la variabilité et de l'héritabilité de ces traits permettront d'estimer le potentiel de survie des différentes populations et d'adaptabilité de l'espèce face aux changements climatiques futurs.



## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abele, D., Heise, K., Pörtner, H. O. & Puntarulo, S. (2002). Temperature-dependence of mitochondrial function and production of reactive oxygen species in the intertidal mud clam *Mya arenaria*. *Journal of Experimental Biology*, 205(13), 1831-1841. <https://doi.org/10.1242/jeb.205.13.1831>
- Abi-Ayad, S. M. E. A., Boutiba, Z., Mélard, C. & Kestemont, P. (2004). Dynamics of total body fatty acids during early ontogeny of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Fish physiology and Biochemistry*, 30(2), 129-136. <https://doi.org/10.1007/s10695-005-3417-9>
- Acehan, D., Malhotra, A., Xu, Y., Ren, M., Stokes, D. L. & Schlame, M. (2011). Cardiolipin affects the supramolecular organization of ATP synthase in mitochondria. *Biophysical journal*, 100(9), 2184-2192. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2011.03.031>
- Adam, A. C., Lie, K. K., Moren, M. & Skjærven, K. H. (2017). High dietary arachidonic acid levels induce changes in complex lipids and immune-related eicosanoids and increase levels of oxidised metabolites in zebrafish (*Danio rerio*). *British Journal of Nutrition*, 117(8), 1075-1085. <https://doi.org/10.1017/S0007114517000903>
- Ahmad, S. M., Shah, F. A., Bhat, F. A., Bhat, J. I. A. & Balkhi, M. H. (2011). Thermal adaptability and disease association in common carp (*Cyprinus carpio communis*) acclimated to different (four) temperatures. *Journal of Thermal Biology*, 36(8), 492-497. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2011.08.007>
- Ahmadi, A., Mozanzadeh, M. T., Agh, N. & Bahabadi, M. N. (2017). Effects of enriched Artemia with *Saccharomyces cerevisiae* and *Chaetoceros gracilis* on growth performance, stress resistance and fatty acid profile of *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 5(2), 669-673.
- Ahmadi, A., Torfi Mozanzadeh, M., Agh, N. & Nafisi Bahabadi, M. (2019). Effects of enriched Artemia with n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids on growth performance, stress resistance and fatty acid profile of *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *Iranian Journal of Fisheries Science*, 18(3), 562-574. <http://hdl.handle.net/1834/15949>

- Akhtar, M. S., Pal, A. K., Sahu, N. P., Ciji, A. & Mahanta, P. C. (2013). Thermal tolerance, oxygen consumption and haemato-biochemical variables of *Tor putitora* juveniles acclimated to five temperatures. *Fish Physiology and Biochemistry*, 39(6), 1387-1398. <https://doi.org/10.1007/s10695-013-9793-7>
- Almaida-Pagán, P. F., de Costa, J., Mendiola, P. & Tocher, D. R. (2012). Age-related changes in mitochondrial membrane composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) heart and brain. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 163(1), 129-137. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2012.05.013>
- Anttila, K., Dhillon, R. S., Boulding, E. G., Farrell, A. P., Glebe, B. D., Elliott, J. A. K., ... & Schulte, P. M. (2013). Variation in temperature tolerance among families of Atlantic salmon (*Salmo salar*) is associated with hypoxia tolerance, ventricle size and myoglobin level. *Journal of experimental biology*, 216(7), 1183-1190. <https://doi.org/10.1242/jeb.080556>
- Anttila, K., Mauduit, F., Kanerva, M., Götting, M., Nikinmaa, M. & Claireaux, G. (2023). Cardiovascular oxygen transport and peripheral oxygen extraction capacity contribute to acute heat tolerance in European seabass. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 275, 111340. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2022.111340>
- Araújo, B. C., Rodriguez, M., Honji, R. M., Rombenso, A. N., del Rio-Zaragoza, O. B., Cano, A., ... & Viana, M. T. (2021). Arachidonic acid modulated lipid metabolism and improved productive performance of striped bass (*Morone saxatilis*) juvenile under sub-to optimal temperatures. *Aquaculture*, 530, 735939. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735939>
- Arvisais, M., Canuel, H. & Vallières, A. (2013). Outil d'aide à l'ensemencement des plans d'eau – L'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*). Ministère du Développement Durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs.
- Asil, S. M., Kenari, A. A., Miyanji, G. R. & Van Der Kraak, G. (2017). The influence of dietary arachidonic acid on growth, reproductive performance, and fatty acid composition of ovary, egg and larvae in an anabantid model fish, Blue gourami (*Trichopodus trichopterus*; Pallas, 1770). *Aquaculture*, 476, 8-18. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.03.048>
- Banh, S., Wiens, L., Sotiri, E. & Treberg, J. R. (2016). Mitochondrial reactive oxygen species production by fish muscle mitochondria: potential role in acute heat-induced oxidative stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 191, 99-107. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2015.10.001>

- Bazán, S., Mileykovskaya, E., Mallampalli, V. K. P. S., Heacock, P., Sparagna, G. C. & Dowhan, W. (2013). Cardiolipin-dependent reconstitution of respiratory supercomplexes from purified *Saccharomyces cerevisiae* complexes III and IV. *Journal of Biological Chemistry*, 288(1), 401-411. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.425876>
- Becker, C. D. & Genoway, R. G. (1979). Evaluation of the critical thermal maximum for determining thermal tolerance of freshwater fish. *Environmental Biology of Fishes*, 4, 245-256. <https://doi.org/10.1007/BF00005481>
- Bell, M. V., Henderson, R. J. & Sargent, J. R. (1986). The role of polyunsaturated fatty acids in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 83(4), 711-719. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(86\)90135-5](https://doi.org/10.1016/0305-0491(86)90135-5)
- Bell, J. G., McVicar, A. H., Park, M. T. & Sargent, J. R. (1991). High dietary linoleic acid affects the fatty acid compositions of individual phospholipids from tissues of Atlantic salmon (*Salmo salar*): association with stress susceptibility and cardiac lesion. *The Journal of nutrition*, 121(8), 1163-1172. <https://doi.org/10.1093/jn/121.8.1163>
- Bell, J. G., Dick, J. R., McVicar, A. H., Sargent, J. R. & Thompson, K. D. (1993). Dietary sunflower, linseed and fish oils affect phospholipid fatty acid composition, development of cardiac lesions, phospholipase activity and eicosanoid production in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 49(3), 665-673. [https://doi.org/10.1016/0952-3278\(93\)90075-8](https://doi.org/10.1016/0952-3278(93)90075-8)
- Bell, J. G., Ashton, I., Secombes, C. J., Weitzel, B. R., Dick, J. R. & Sargent, J. R. (1996). Dietary lipid affects phospholipid fatty acid compositions, eicosanoid production and immune function in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 54(3), 173-182. [https://doi.org/10.1016/S0952-3278\(96\)90013-7](https://doi.org/10.1016/S0952-3278(96)90013-7)
- Bernard, C. (1957). An introduction to the study of experimental medicine. *Courier Corporation*, 400.
- Biederman, A. M., Kuhn, D. E., O'Brien, K. M. & Crockett, E. L. (2019a). Physical, chemical, and functional properties of neuronal membranes vary between species of Antarctic notothenioids differing in thermal tolerance. *Journal of Comparative Physiology B*, 189, 213-222. <https://doi.org/10.1007/s00360-019-01207-x>
- Biederman, A. M., Kuhn, D. E., O'Brien, K. M. & Crockett, E. L. (2019b). Mitochondrial membranes in cardiac muscle from Antarctic notothenioid fishes vary in phospholipid composition and membrane fluidity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 235, 46-53. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2019.05.011>

- Birnie-Gauvin, K., Costantini, D., Cooke, S. J. & Willmore, W. G. (2017). A comparative and evolutionary approach to oxidative stress in fish: a review. *Fish and Fisheries*, 18(5), 928-942. <https://doi.org/10.1111/faf.12215>
- Blier, P. U. & Guderley, H. E. (1993). Mitochondrial activity in rainbow trout red muscle: the effect of temperature on the ADP-dependence of ATP synthesis. *Journal of Experimental Biology*, 176(1), 145-158. <https://doi.org/10.1242/jeb.176.1.145>
- Blier, P. U. (2014). Fish health: an oxidative stress perspective. *Fisheries and Aquaculture Journal*, 5(1), 4172. <http://dx.doi.org/10.4172/2150-3508.1000e105>
- Blier, P. U., Lemieux, H. & Pichaud, N. (2014). Holding our breath in our modern world: will mitochondria keep the pace with climate changes? *Canadian Journal of Zoology*, 92(7), 591-601. <https://doi.org/10.1139/cjz-2013-0183>
- Blier, P. U., Abele, D., Munro, D., Degletagne, C., Rodriguez, E. & Hagen, T. (2017). What modulates animal longevity? Fast and slow aging in bivalves as a model for the study of lifespan. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 70, 130-140. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.07.046>
- Bogdanov, M., Mileykovskaya, E. & Dowhan, W. (2008). Lipids in the assembly of membrane proteins and organization of protein supercomplexes: implications for lipid-linked disorders. In P. J. Quinn & X. Wang (dir.), *Lipids in Health and Disease* (p. 197-239). Springer Science & Business Media.
- Bourre, J. M., Bonneil, M., Clément, M., Dumont, O., Durand, G., Lafont, H., ... & Piciotti, M. (1993). Function of dietary polyunsaturated fatty acids in the nervous system. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids*, 48(1), 5-15. [https://doi.org/10.1016/0952-3278\(93\)90003-F](https://doi.org/10.1016/0952-3278(93)90003-F)
- Boveris, A. & Chance, B. (1973). The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochemical Journal*, 134(3), 707-716. <https://doi.org/10.1042/bj1340707>
- Boyd, K. J., Alder, N. N. & May, E. R. (2017). Buckling under pressure: curvature-based lipid segregation and stability modulation in cardiolipin-containing bilayers. *Langmuir*, 33(27), 6937-6946. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b01185>
- Brand, M. D., Couture, P., Else, P. L., Withers, K. W. & Hulbert, A. J. (1991). Evolution of energy metabolism. Proton permeability of the inner membrane of liver mitochondria is greater in a mammal than in a reptile. *Biochemical Journal*, 275(1), 81-86. <https://doi.org/10.1042/bj2750081>

- Brand, M. D. (2010). The sites and topology of mitochondrial superoxide production. *Experimental gerontology*, 45(7-8), 466-472. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.01.003>
- Brander, K., Blom, G., Borges, M. F., Erzini, K., Henderson, G., MacKenzie, B. R., ... & Toresen, R. (2003). Changes in fish distribution in the eastern North Atlantic: Are we seeing a coherent response to changing temperature? *ICES Marine Science Symposia*, 219, 261-270.
- Braverman, N. E. & Moser, A. B. (2012). Functions of plasmalogen lipids in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1822(9), 1442-1452. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.05.008>
- Breitzig, M., Bhimineni, C., Lockey, R. & Kolliputi, N. (2016). 4-Hydroxy-2-nonenal: a critical target in oxidative stress? *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 311(4), 537-543. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00101.2016>
- Bronson, F. H. (2009). Climate change and seasonal reproduction in mammals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1534), 3331-3340. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0140>
- Brookes, P. S., Buckingham, J. A., Tenreiro, A. M., Hulbert, A. J. & Brand, M. D. (1998). The proton permeability of the inner membrane of liver mitochondria from ectothermic and endothermic vertebrates and from obese rats: correlations with standard metabolic rate and phospholipid fatty acid composition. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 119(2), 325-334. [https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(97\)00357-X](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(97)00357-X)
- Calder, P. C. (2009). Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: new twists in an old tale. *Biochimie*, 91(6), 791-795. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2009.01.008>
- Calder, P. C. (2017). Omega-3 fatty acids and inflammatory processes: from molecules to man. *Biochemical Society Transactions*, 45(5), 1105-1115. <https://doi.org/10.1042/BST20160474>
- Cannon, W.B. (1939). *The Wisdom of the Body* (2e ed.). W. W. Norton & Company.
- Carrier III, J. K., Watanabe, W. O., Harel, M., Rezek, T. C., Seaton, P. J. & Shafer, T. H. (2011). Effects of dietary arachidonic acid on larval performance, fatty acid profiles, stress resistance, and expression of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase mRNA in black sea bass *Centropristis striata*. *Aquaculture*, 319(1-2), 111-121. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.06.027>

- Casselman, J. M. (2002). Effects of temperature, global extremes, and climate change on year-class production of warmwater, coolwater, and coldwater fishes in the Great Lakes basin. *American Fisheries Society Symposium*, 39-60.
- Chance, B., Sies, H. & Boveris, A. (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological reviews*, 59(3), 527-605. <https://doi.org/10.1152/physrev.1979.59.3.527>
- Chattopadhyay, M. & Jagannadham, M. (2001). Maintenance of membrane fluidity in Antarctic bacteria. *Polar Biology*, 24, 386-388. <https://doi.org/10.1007/s003000100232>
- Chen, J. J. & Yu, B. P. (1994). Alterations in mitochondrial membrane fluidity by lipid peroxidation products. *Free Radical Biology and Medicine*, 17(5), 411-418. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(94\)90167-8](https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)90167-8)
- Chinnery, P. F. & Schon, E. A. (2003). Mitochondria. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 74(9), 1188-1199. <http://dx.doi.org/10.1136/jnnp.74.9.1188>
- Chowdhury, S. & Saikia, S. K. (2020). Oxidative stress in fish: a review. *Journal of Scientific Research*, 12(1), 145-160. <https://doi.org/10.3329/jsr.v12i1.41716>
- Christen, F., Desrosiers, V., Dupont-Cyr, B. A., Vandenberg, G. W., Le François, N. R., Tardif, J. C., ... & Blier, P. U. (2018). Thermal tolerance and thermal sensitivity of heart mitochondria: Mitochondrial integrity and ROS production. *Free Radical Biology and Medicine*, 116, 11-18. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.12.037>
- Christen, F., Dufresne, F., Leduc, G., Dupont-Cyr, B. A., Vandenberg, G. W., Le François, N. R., ... & Blier, P. U. (2020). Thermal tolerance and fish heart integrity: fatty acids profiles as predictors of species resilience. *Conservation Physiology*, 8(1), coaa108. <https://doi.org/10.1093/conphys/coaa108>
- Chung, D. J., Bryant, H. J. & Schulte, P. M. (2017). Thermal acclimation and subspecies-specific effects on heart and brain mitochondrial performance in a eurythermal teleost (*Fundulus heteroclitus*). *Journal of Experimental Biology*, 220(8), 1459-1471. <https://doi.org/10.1242/jeb.151217>
- Cogliati, S., Enriquez, J. A. & Scorrano, L. (2016). Mitochondrial cristae: where beauty meets functionality. *Trends in biochemical sciences*, 41(3), 261-273. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2016.01.001>



- Cossins, A. R. (1977). Adaptation of biological membranes to temperature. The effect of temperature acclimation of goldfish upon the viscosity of synaptosomal membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 470(3), 395-411. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(77\)90131-6](https://doi.org/10.1016/0005-2736(77)90131-6)
- Cossins, A. R. & Prosser, C. L. (1982). Variable homeoviscous responses of different brain membranes of thermally-acclimated goldfish. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 687(2), 303-309. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(82\)90559-4](https://doi.org/10.1016/0005-2736(82)90559-4)
- Cossins, A. R. & Macdonald, A. G. (1989). The adaptation of biological membranes to temperature and pressure: fish from the deep and cold. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 21, 115-135. <https://doi.org/10.1007/BF00762215>
- Cox, D. K. (1974). Effects of three heating rates on the critical thermal maximum of bluegill. *Thermal ecology*, 158-163.
- Crispo, E. & Chapman, L. J. (2010). Geographic variation in phenotypic plasticity in response to dissolved oxygen in an African cichlid fish. *Journal of evolutionary biology*, 23(10), 2091-2103. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2010.02069.x>
- Cuculescu, M., Hyde, D. & Bowler, K. (1995). Temperature acclimation of marine crabs: changes in plasma membrane fluidity and lipid composition. *Journal of Thermal Biology*, 20(1-2), 207-222. [https://doi.org/10.1016/0306-4565\(94\)00058-Q](https://doi.org/10.1016/0306-4565(94)00058-Q)
- Cuculescu, M., Pearson, T., Hyde, D. & Bowler, K. (1999). Heterothermal acclimation: an experimental paradigm for studying the control of thermal acclimation in crabs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(11), 6501-6505. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.11.6501>
- Cullis, P. R. & Hope, M. J. (1991). Physical properties and functional roles of lipids in membranes. *New Comprehensive Biochemistry*, 20, 1-41. [https://doi.org/10.1016/S0167-7306\(08\)60329-4](https://doi.org/10.1016/S0167-7306(08)60329-4)
- Davis, M. B., Shaw, R. G. & Etterson, J. R. (2005). Evolutionary responses to changing climate. *Ecology*, 86(7), 1704-1714. <https://doi.org/10.1890/03-0788>
- Davies, K. J. A. (2016). Adaptive homeostasis. *Molecular aspects of medicine*, 49, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2016.04.007>
- Dawaliby, R., Trubbia, C., Delporte, C., Noyon, C., Ruyschaert, J. M., Van Antwerpen, P. & Govaerts, C. (2016). Phosphatidylethanolamine is a key regulator of membrane fluidity in eukaryotic cells. *Journal of Biological Chemistry*, 291(7), 3658-3667. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.706523>

- de Costa, J., Barja, G. & Almada-Pagan, P. F. (2020). Membrane peroxidation index and maximum lifespan are negatively correlated in fish of the genus *Nothobranchius*. *Journal of Experimental Biology*, 223(11), jeb224063. <https://doi.org/10.1242/jeb.224063>
- Del Rio, D., Stewart, A. J. & Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases*, 15(4), 316-328. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2005.05.003>
- Dey, I., Buda, C., Wiik, T., Halver, J. E. & Farkas, T. (1993). Molecular and structural composition of phospholipid membranes in livers of marine and freshwater fish in relation to temperature. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(16), 7498-7502. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.16.7498>
- Ekström, A., Sandblom, E., Blier, P. U., Dupont Cyr, B. A., Brijs, J. & Pichaud, N. (2017). Thermal sensitivity and phenotypic plasticity of cardiac mitochondrial metabolism in European perch, *Perca fluviatilis*. *Journal of Experimental Biology*, 220(3), 386-396. <https://doi.org/10.1242/jeb.150698>
- El-Hafidi, M., Correa, F. & Zazueta, C. (2020). Mitochondrial dysfunction in metabolic and cardiovascular diseases associated with cardiolipin remodeling. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1866(6), 165744. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165744>
- Eliason, E. J., Clark, T. D., Hague, M. J., Hanson, L. M., Gallagher, Z. S., Jeffries, K. M., ... & Farrell, A. P. (2011). Differences in thermal tolerance among sockeye salmon populations. *Science*, 332(6025), 109-112. DOI: 10.1126/science.1199158
- Else, P. L. & Hulbert, A. J. (1987). Evolution of mammalian endothermic metabolism: "leaky" membranes as a source of heat. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 253(1), R1-R7. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1987.253.1.R1>
- Else, P. L. (2017). Membrane peroxidation in vertebrates: potential role in metabolism and growth. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(6), 1600319. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201600319>
- Engelmann, B. (2004). Plasmalogens: targets for oxidants and major lipophilic antioxidants. *Biochemical Society Transactions*, 32(1), 147-150. <https://doi.org/10.1042/bst0320147>
- Ernst, R., Ejsing, C. S. & Antonny, B. (2016). Homeoviscous adaptation and the regulation of membrane lipids. *Journal of molecular biology*, 428(24), 4776-4791. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.08.013>

- Fajardo, V. A., McMeekin, L. & LeBlanc, P. J. (2011). Influence of phospholipid species on membrane fluidity: a meta-analysis for a novel phospholipid fluidity index. *The Journal of membrane biology*, 244(2), 97-103. <https://doi.org/10.1007/s00232-011-9401-7>
- Fangue, N. A., Richards, J. G. & Schulte, P. M. (2009). Do mitochondrial properties explain intraspecific variation in thermal tolerance? *Journal of Experimental Biology*, 212(4), 514-522. <https://doi.org/10.1242/jeb.024034>
- Farrell, A. P. (1997). Effects of temperature on cardiovascular performance. In Wood, C. M. & McDonald, D. G. (dir.), *Global Warming: Implications for freshwater and marine fish* (1er ed., p. 135-158). Cambridge University Press.
- Farrell, A. P. (2002). Coronary arteriosclerosis in salmon: growing old or growing fast? *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 132(4), 723-735. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00126-5](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00126-5)
- Farrell, A. P., Hinch, S. G., Cooke, S. J., Patterson, D. A., Crossin, G. T., Lapointe, M. & Mathes, M. T. (2008). Pacific salmon in hot water: applying aerobic scope models and biotelemetry to predict the success of spawning migrations. *Physiological and Biochemical Zoology*, 81(6), 697-708. <https://doi.org/10.1086/592057>
- Filipowska, W., Jaskula-Goiris, B., Ditrych, M., Bustillo Trueba, P., De Rouck, G., Aerts, G., ... & De Cooman, L. (2021). On the contribution of malt quality and the malting process to the formation of beer staling aldehydes: A review. *Journal of the Institute of Brewing*, 127(2), 107-126. <https://doi.org/10.1002/jib.644>
- Fleischer, S. & Fleischer, B. (1967). [70] Removal and binding of polar lipids in mitochondria and other membrane systems. *Methods in enzymology*, 10, 406-433. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(67\)10073-6](https://doi.org/10.1016/0076-6879(67)10073-6)
- Fraser, D. J. (2008). How well can captive breeding programs conserve biodiversity? A review of salmonids. *Evolutionary Applications*, 1(4), 535-586. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2008.00036.x>
- Fry, M. & Green, D. E. (1981). Cardiolipin requirement for electron transfer in complex I and III of the mitochondrial respiratory chain. *Journal of Biological Chemistry*, 256(4), 1874-1880. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)69888-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)69888-1)
- Gamperl, A. K. & Farrell, A. P. (2004). Cardiac plasticity in fishes: environmental influences and intraspecific differences. *Journal of Experimental Biology*, 207(15), 2539-2550. <https://doi.org/10.1242/jeb.01057>
- Garrett, R. & Grisham, C. M. (2000). *Biochimie* (2e ed.). DeBoeck Université.

- Gerhard, G. S. (2007). Small laboratory fish as models for aging research. *Ageing research reviews*, 6(1), 64-72. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2007.02.007>
- Girón-Calle, J., Schmid, P. C. & Schmid, H. H. (1997). Effects of oxidative stress on glycerolipid acyl turnover in rat hepatocytes. *Lipids*, 32, 917-923. <https://doi.org/10.1007/s11745-997-0118-9>
- Golden, T. R., Hinerfeld, D. A. & Melov, S. (2002). Oxidative stress and aging: beyond correlation. *Aging cell*, 1(2), 117-123. <https://doi.org/10.1046/j.1474-9728.2002.00015.x>
- González, S., Flick, G. J., O'keefe, S. F., Duncan, S. E., McLean, E. & Craig, S. R. (2006). Composition of farmed and wild yellow perch (*Perca flavescens*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 720-726. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.007>
- Grazina, L., Rodrigues, P. J., Igrejas, G., Nunes, M. A., Mafra, I., Arlorio, M., ... & Amaral, J. S. (2020). Machine learning approaches applied to GC-FID fatty acid profiles to discriminate wild from farmed salmon. *Foods*, 9(11), 1622. <https://doi.org/10.3390/foods9111622>
- Greenspan, S. E., Bower, D. S., Roznik, E. A., Pike, D. A., Marantelli, G., Alford, R. A., ... & Scheffers, B. R. (2017). Infection increases vulnerability to climate change via effects on host thermal tolerance. *Scientific reports*, 7(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09950-3>
- Guderley, H. & Johnston, I. A. (1996). Plasticity of fish muscle mitochondria with thermal acclimation. *Journal of experimental biology*, 199(6), 1311-1317. <https://doi.org/10.1242/jeb.199.6.1311>
- Haines, T. H. & Dencher, N. A. (2002). Cardiolipin: a proton trap for oxidative phosphorylation. *FEBS letters*, 528(1-3), 35-39. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(02\)03292-1](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(02)03292-1)
- Halliwell, B. & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (5e ed.). Oxford university press.
- Handy, D. E. & Loscalzo, J. (2012). Redox regulation of mitochondrial function. *Antioxidants & redox signaling*, 16(11), 1323-1367. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4123>
- Hardewig, I., Pörtner, H. O. & Peck, L. S. (1999). Thermal sensitivity of mitochondrial function in the Antarctic Notothenioid *Lepidonotothen nudifrons*. *Journal of Comparative Physiology B*, 169, 597-604. <https://doi.org/10.1007/s003600050260>

- Hazel, J. R. (1984). Effects of temperature on the structure and metabolism of cell membranes in fish. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 246(4), R460-R470. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1984.246.4.R460>
- Hazel, J. R. & Williams, E. E. (1990). The role of alterations in membrane lipid composition in enabling physiological adaptation of organisms to their physical environment. *Progress in lipid research*, 29(3), 167-227. [https://doi.org/10.1016/0163-7827\(90\)90002-3](https://doi.org/10.1016/0163-7827(90)90002-3)
- Hazel, J. R. (1995). Thermal adaptation in biological membranes: is homeoviscous adaptation the explanation? *Annual review of physiology*, 57, 19-42. DOI: 10.1146/annurev.ph.57.030195.000315
- Healy, T. M. & Schulte, P. M. (2012). Factors affecting plasticity in whole-organism thermal tolerance in common killifish (*Fundulus heteroclitus*). *Journal of Comparative Physiology B*, 182, 49-62. <https://doi.org/10.1007/s00360-011-0595-x>
- Hemmer-Brepson, C., Replumaz, L., Romestaing, C., Voituron, Y. & Daufresne, M. (2014). Non-stressful temperature effect on oxidative balance and life history traits in adult fish (*Oryzias latipes*). *Journal of Experimental Biology*, 217(2), 274-282. <https://doi.org/10.1242/jeb.096172>
- Herrera, C. M., Voss, B. J. & Trent, M. S. (2021). Homeoviscous Adaptation of the *Acinetobacter baumannii* Outer Membrane: Alteration of Lipooligosaccharide Structure during Cold Stress. *Mbio*, 12(4), e01295-21. <https://doi.org/10.1128/mBio.01295-21>
- Hilton, Z., Clements, K. D. & Hickey, A. J. (2010). Temperature sensitivity of cardiac mitochondria in intertidal and subtidal triplefin fishes. *Journal of Comparative Physiology B*, 180, 979-990. <https://doi.org/10.1007/s00360-010-0477-7>
- Hochachko, P. W. (1994). *Muscles as molecular and metabolic machines* (1er ed.). CRC Press.
- Hofmann, G. E. & Todgham, A. E. (2010). Living in the now: physiological mechanisms to tolerate a rapidly changing environment. *Annual Review of Physiology*, 72, 127-145. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135900>
- Holman, R. T. (1954). Autoxidation of fats and related substances. *Progress in the chemistry of fats and other lipids*, 2, 51-98. [https://doi.org/10.1016/0079-6832\(54\)90004-X](https://doi.org/10.1016/0079-6832(54)90004-X)

- Hossain, M. A. (2011). Fish as source of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs), which one is better-farmed or wild. *Advance Journal of food science and technology*, 3(6), 455-466.
- Hsieh, S. L., Chen, Y. N. & Kuo, C. M. (2003). Physiological responses, desaturase activity, and fatty acid composition in milkfish (*Chanos chanos*) under cold acclimation. *Aquaculture*, 220(1-4), 903-918. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00579-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00579-3)
- Hsu, C. Y. & Chiu, Y. C. (2009). Ambient temperature influences aging in an annual fish (*Nothobranchius rachovii*). *Aging Cell*, 8(6), 726-737. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2009.00525.x>
- Hu, X. P. & Appel, A. G. (2004). Seasonal variation of critical thermal limits and temperature tolerance in Formosan and eastern subterranean termites (Isoptera: *Rhinotermitidae*). *Environmental entomology*, 33(2), 197-205. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-33.2.197>
- Hulbert, A. J. & Else, P. L. (1990). The cellular basis of endothermic metabolism: a role for "leaky" membranes? *Physiology*, 5(1), 25-28. <https://doi.org/10.1152/physiologyonline.1990.5.1.25>
- Hulbert, A. J. & Else, P. L. (1999). Membranes as possible pacemakers of metabolism. *Journal of theoretical biology*, 199(3), 257-274. <https://doi.org/10.1006/jtbi.1999.0955>
- Hulbert, A. J., Pamplona, R., Buffenstein, R. & Buttemer, W. A. (2007). Life and death: metabolic rate, membrane composition, and life span of animals. *Physiological reviews*, 87(4), 1175-1213. <https://doi.org/10.1152/physrev.00047.2006>
- Hundal, B. K., Liland, N. S., Rosenlund, G., Höglund, E., Araujo, P., Stubhaug, I. & Sissener, N. H. (2021). Increasing the dietary n-6/n-3 ratio alters the hepatic eicosanoid production after acute stress in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 534, 736272. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736272>
- Iftikar, F. I. & Hickey, A. J. R. (2013). Do mitochondria limit hot fish hearts? Understanding the role of mitochondrial function with heat stress in *Notolabrus celidotus*. *PLoS One*, 8(5), e64120. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064120>
- Iftikar, F. I., MacDonald, J. R., Baker, D. W., Renshaw, G. M. C. & Hickey, A. J. R. (2014). Could thermal sensitivity of mitochondria determine species distribution in a changing climate? *Journal of Experimental Biology*, 217(13), 2348-2357. <https://doi.org/10.1242/jeb.098798>

- Ignacio, A., Traba, J. & Rueda, C. B. (2016). Isolating Brain Mitochondria by Differential Centrifugation. *Bio-protocol*, 6(10): e1810. DOI:10.21769/BioProtoc.1810.
- Ikon, N. & Ryan, R. O. (2017). Cardiolipin and mitochondrial cristae organization. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1859(6), 1156-1163. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.03.013>
- Iribarren, C., Markovitz, J. H., Jacobs, D. R., Schreiner, P. J., Daviglius, M. & Hibbeln, J. R. (2004). Dietary intake of n-3, n-6 fatty acids and fish: relationship with hostility in young adults-the CARDIA study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58, 24-31. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601739>
- Itri, R., Junqueira, H. C., Mertins, O. & Baptista, M. S. (2014). Membrane changes under oxidative stress: the impact of oxidized lipids. *Biophysical reviews*, 6, 47-61. <https://doi.org/10.1007/s12551-013-0128-9>
- Iverson, S. L. & Orrenius, S. (2004). The cardiolipin–cytochrome c interaction and the mitochondrial regulation of apoptosis. *Archives of biochemistry and biophysics*, 423(1), 37-46. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2003.12.002>
- Jeffries, K. M., Hinch, S. G., Sierocinski, T., Pavlidis, P. & Miller, K. M. (2014). Transcriptomic responses to high water temperature in two species of Pacific salmon. *Evolutionary applications*, 7(2), 286-300. <https://doi.org/10.1111/eva.12119>
- Kadenbach, B., Arnold, S., Lee, I. & Hüttemann, M. (2004). The possible role of cytochrome c oxidase in stress-induced apoptosis and degenerative diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1655, 400-408. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2003.06.005>
- Kalogeropoulos, N., Panagiotakos, D. B., Pitsavos, C., Chrysohoou, C., Rousinou, G., Toutouza, M. & Stefanadis, C. (2010). Unsaturated fatty acids are inversely associated and n-6/n-3 ratios are positively related to inflammation and coagulation markers in plasma of apparently healthy adults. *Clinica chimica acta*, 411(7-8), 584-591. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2010.01.023>
- Kaneniwa, M., Miyashita, K. & Takagi, T. (1988). Autoxidation rates of 5-olefinic monoenoic and dienoic fatty acids from sea urchin lipids and meadowfoam oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 65(9), 1470. <https://doi.org/10.1007/BF02898310>
- Keen, A. N., Klaiman, J. M., Shiels, H. A. & Gillis, T. E. (2017). Temperature-induced cardiac remodelling in fish. *Journal of Experimental Biology*, 220(2), 147-160. <https://doi.org/10.1242/jeb.128496>

- Kelly, K. A., Havrilla, C. M., Brady, T. C., Abramo, K. H. & Levin, E. D. (1998). Oxidative stress in toxicology: established mammalian and emerging piscine model systems. *Environmental health perspectives*, 106(7), 375-384. <https://doi.org/10.1289/ehp.98106375>
- Klaiman, J. M., Fenna, A. J., Shiels, H. A., Macri, J. & Gillis, T. E. (2011). Cardiac remodeling in fish: strategies to maintain heart function during temperature change. *PloS one*, 6(9), e24464. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024464>
- Kotrschal, A., Rogell, B., Bundsen, A., Svensson, B., Zajitschek, S., Brännström, I., ... & Kolm, N. (2013). The benefit of evolving a larger brain: big-brained guppies perform better in a cognitive task. *Animal behaviour*, 86(4), e4-e6. doi: 10.1016/j.anbehav.2013.07.011
- Koven, W., Barr, Y., Lutzky, S., Ben-Atia, I., Weiss, R., Harel, M., ... & Tandler, A. (2001). The effect of dietary arachidonic acid (20: 4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 193(1-2), 107-122. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00479-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00479-8)
- Kraffe, E., Marty, Y. & Guderley, H. (2007). Changes in mitochondrial oxidative capacities during thermal acclimation of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: roles of membrane proteins, phospholipids and their fatty acid compositions. *Journal of Experimental Biology*, 210(1), 149-165. <https://doi.org/10.1242/jeb.02628>
- Kubb, R. N., Spotila, J. R. & Pendergast, D. R. (1980). Mechanisms of heat transfer and time-dependent modeling of body temperatures in the largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Physiological Zoology*, 53(2), 222-239. <https://doi.org/10.1086/physzool.53.2.30152585>
- Kuczynski, B. & Reo, N. V. (2006). Evidence that plasmalogen is protective against oxidative stress in the rat brain. *Neurochemical research*, 31, 639-656. <https://doi.org/10.1007/s11064-006-9061-7>
- Kujoth, G. C., Hiona, A., Pugh, T. D., Someya, S., Panzer, K., Wohlgemuth, S. E., ... & Prolla, T. A. (2005). Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science*, 309(5733), 481-484. DOI: 10.1126/science.1112125
- Larsson, S., Forseth, T., Berglund, I., Jensen, A. J., Näslund, I., Elliott, J. M., & Jonsson, B. (2005). Thermal adaptation of Arctic charr: experimental studies of growth in eleven charr populations from Sweden, Norway and Britain. *Freshwater Biology*, 50(2), 353-368. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2004.01326.x>
- Lauritzen, L. A. (2001). The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Progress in Lipid Research*, 40, 1-94.



- Lemieux, H., Bulteau, A. L., Friguet, B., Tardif, J. C. & Blier, P. U. (2011). Dietary fatty acids and oxidative stress in the heart mitochondria. *Mitochondrion*, 11(1), 97-103. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2010.07.014>
- Lepage, G. & Roy, C. C. (1984). Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. *Journal of Lipid research*, 25(12), 1391-1396. [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)34457-6](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)34457-6)
- Li, Q., Ai, Q., Mai, K., Xu, W. & Zheng, Y. (2012). In vitro effects of arachidonic acid on immune functions of head kidney macrophages isolated from large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Aquaculture*, 330-333, 47-53. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.11.045>
- Li, X., Fang, P., Mai, J., Choi, E. T., Wang, H. & Yang, X. F. (2013). Targeting mitochondrial reactive oxygen species as novel therapy for inflammatory diseases and cancers. *Journal of hematology & oncology*, 6(1), 1-19. <https://doi.org/10.1186/1756-8722-6-19>
- Logue, J. A., Howell, B. R., Bell, J. G. & Cossins, A. R. (2000). Dietary n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid deprivation, tissue lipid composition, ex vivo prostaglandin production, and stress tolerance in juvenile dover sole (*Solea solea* L.). *Lipids*, 35(7), 745-755. <https://doi.org/10.1007/s11745-000-0581-3>
- Lucas-Sánchez, A., Almáida-Pagán, P. F., Mendiola, P. & de Costa, J. (2014). *Nothobranchius* as a model for aging studies. A review. *Aging and Disease*, 5(4), 281-291. DOI: 10.14336/AD.2014.0500281
- Lund, I., Skov, P. V. & Hansen, B. W. (2012). Dietary supplementation of essential fatty acids in larval pikeperch (*Sander lucioperca*); short and long term effects on stress tolerance and metabolic physiology. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 162(4), 340-348. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2012.04.004>
- Lutterschmidt, W. I. & Hutchison, V. H. (1997). The critical thermal maximum: data to support the onset of spasms as the definitive end point. *Canadian Journal of Zoology*, 75(10), 1553-1560. <https://doi.org/10.1139/z97-782>
- M'Baye, G., Mély, Y., Duportail, G. & Klymchenko, A. S. (2008). Liquid ordered and gel phases of lipid bilayers: fluorescent probes reveal close fluidity but different hydration. *Biophysical journal*, 95(3), 1217-1225. <https://doi.org/10.1529/biophysj.107.127480>

- Ma, H. N., Jin, M., Zhu, T. T., Li, C. C., Lu, Y., Yuan, Y., ... & Zhou, Q. C. (2018). Effect of dietary arachidonic acid levels on growth performance, fatty acid profiles and lipid metabolism of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aquaculture*, 486, 31-41. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.055>
- MacCrimmon, H. R. & Campbell, J. S. (1969). World distribution of brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 26(7), 1699-1725. <https://doi.org/10.1139/f69-159>
- Madamanchi, N. R. & Runge, M. S. (2007). Mitochondrial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation research*, 100(4), 460-473. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000258450.44413.96>
- Madeira, D., Narciso, L., Cabral, H. N., Vinagre, C. & Diniz, M. S. (2013). Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 166(2), 237-243. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.06.008>
- Madeira, D., Vinagre, C. & Diniz, M. S. (2016a). Are fish in hot water? Effects of warming on oxidative stress metabolism in the commercial species *Sparus aurata*. *Ecological Indicators*, 63, 324-331. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.12.008>
- Madeira, C., Madeira, D., Diniz, M. S., Cabral, H. N. & Vinagre, C. (2016b). Thermal acclimation in clownfish: an integrated biomarker response and multi-tissue experimental approach. *Ecological Indicators*, 71, 280-292. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.07.009>
- Mahler, S. M., Wilce, P. A. & Shanley, B. C. (1988). Studies on regenerating liver and hepatoma plasma membranes—I. Lipid and protein composition. *International Journal of Biochemistry*, 20(6), 605-611.
- Mäkinen, H., Vasemägi, A., McGinnity, P., Cross, T. F. & Primmer, C. R. (2014). Population genomic analyses of early-phase Atlantic Salmon (*Salmo salar*) domestication/captive breeding. *Evolutionary applications*, 8(1), 93-107. <https://doi.org/10.1111/eva.12230>
- Malekar, V. C., Morton, J. D., Hider, R. N., Cruickshank, R. H., Hodge, S. & Metcalf, V. J. (2018). Effect of elevated temperature on membrane lipid saturation in Antarctic notothenioid fish. *PeerJ*, 6, e4765. <https://doi.org/10.7717/peerj.4765>
- Maranzana, E., Barbero, G., Falasca, A. I., Lenaz, G. & Genova, M. L. (2013). Mitochondrial respiratory supercomplex association limits production of reactive oxygen species from complex I. *Antioxidants & redox signaling*, 19(13), 1469-1480. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4845>

- Martinez, E., Menze, M. A. & Torres, J. J. (2013). Mitochondrial energetics of benthic and pelagic Antarctic teleosts. *Marine biology*, 160, 2813-2823. <https://doi.org/10.1007/s00227-013-2273-x>
- Martins, D. A., Rocha, F., Martínez-Rodríguez, G., Bell, G., Morais, S., Castanheira, F., ... & Conceição, L. E. C. (2012). Teleost fish larvae adapt to dietary arachidonic acid supply through modulation of the expression of lipid metabolism and stress response genes. *British Journal of Nutrition*, 108(5), 864-874. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114511006143>
- Massaeli, H., Sobrattee, S. & Pierce, G. N. (1999). The importance of lipid solubility in antioxidants and free radical generating systems for determining lipoprotein peroxidation. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(11-12), 1524-1530. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(99\)00018-0](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(99)00018-0)
- Mateus, A. P., Power, D. M. & Canário, A. V. (2017). Stress and disease in fish. In G. Jeney (dir), *Fish diseases* (187-220). Academic Press.
- McEwen, B. S. & Wingfield, J. C. (2003). The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Hormones and behavior*, 43(1), 2-15. [https://doi.org/10.1016/S0018-506X\(02\)00024-7](https://doi.org/10.1016/S0018-506X(02)00024-7)
- Miles, E. A., Allen, E. & Calder, P. C. (2002). In vitro effects of eicosanoids derived from different 20-carbon fatty acids on production of monocyte-derived cytokines in human whole blood cultures. *Cytokine*, 20(5), 215-223. <https://doi.org/10.1006/cyto.2002.2007>
- Mileykovskaya, E. & Dowhan, W. (2009). Cardiolipin membrane domains in prokaryotes and eukaryotes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1788(10), 2084-2091. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2009.04.003>
- Milot, E., Perrier, C., Papillon, L., Dodson, J. J. & Bernatchez, L. (2013). Reduced fitness of Atlantic salmon released in the wild after one generation of captive breeding. *Evolutionary applications*, 6(3), 472-485. <https://doi.org/10.1111/eva.12028>
- Montgomery, M. K., Buttemer, W. A. & Hulbert, A. J. (2012). Does the oxidative stress theory of aging explain longevity differences in birds? II. Antioxidant systems and oxidative damage. *Experimental gerontology*, 47(3), 211-222. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2011.11.014>
- Morgan, R., Finnøen, M. H. & Jutfelt, F. (2018). CTmax is repeatable and doesn't reduce growth in zebrafish. *Scientific reports*, 8, 1-8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25593-4>

- Morrissy, S. & Chen, Q. M. (2010). Oxidative Stress and Heart Failure. *Cardiovascular Toxicology*, 6, 221-242. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-046884-6.00711-9>
- Moyes, C. D. & Schulte, P. M. (2014). *Principles of animal physiology* (2e ed.). Pearson Education Limited.
- Munro, D. & Blier, P. U. (2012). The extreme longevity of *Arctica islandica* is associated with increased peroxidation resistance in mitochondrial membranes. *Aging cell*, 11(5), 845-855. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2012.00847.x>
- Munro, D. & Treberg, J. R. (2017). A radical shift in perspective: mitochondria as regulators of reactive oxygen species. *Journal of Experimental Biology*, 220(7), 1170-1180. <https://doi.org/10.1242/jeb.132142>
- Munro, D., Baldy, C., Pamerter, M. E. & Treberg, J. R. (2019). The exceptional longevity of the naked mole-rat may be explained by mitochondrial antioxidant defenses. *Aging Cell*, 18(3), e12916. <https://doi.org/10.1111/acel.12916>
- Munro, D., Rodríguez, E. & Blier, P. U. (2022). The longest-lived metazoan, *Arctica islandica*, exhibits high mitochondrial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> removal capacities. *Mitochondrion*, 68, 81-86. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2022.11.005>
- Narum, S. R., Campbell, N. R., Kozfkay, C. C. & Meyer, K. A. (2010). Adaptation of redband trout in desert and montane environments. *Molecular Ecology*, 19(21), 4622-4637. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04839.x>
- Nayak, S., Al Ashhab, A., Zilberg, D. & Khozin-Goldberg, I. (2020). Dietary supplementation with omega-6 LC-PUFA-rich microalgae regulates mucosal immune response and promotes microbial diversity in the zebrafish gut. *Biology*, 9(6), 119. <https://doi.org/10.3390/biology9060119>
- Nicholls, D. G. & Ferguson, S. J. (2001). *Bioenergetics 3* (2e ed.). Academic Press.
- Niki, E. (1987). Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chemistry and physics of lipids*, 44(2-4), 227-253. [https://doi.org/10.1016/0009-3084\(87\)90052-1](https://doi.org/10.1016/0009-3084(87)90052-1)
- Nyamukondiwa, C. & Terblanche, J. S. (2009). Thermal tolerance in adult Mediterranean and Natal fruit flies (*Ceratitis capitata* and *Ceratitis rosa*): effects of age, gender and feeding status. *Journal of Thermal Biology*, 34(8), 406-414. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2009.09.002>
- Nyboer, E. A. & Chapman, L. J. (2018). Cardiac plasticity influences aerobic performance and thermal tolerance in a tropical, freshwater fish at elevated temperatures. *Journal of experimental biology*, 221(15), jeb178087. <https://doi.org/10.1242/jeb.178087>

- O'Brien, K. M., Joyce, W., Crockett, E. L., Axelsson, M., Egginton, S. & Farrell, A. P. (2021). Resilience of cardiac performance in Antarctic notothenioid fishes in a warming climate. *Journal of Experimental Biology*, 224(10), jeb220129. <https://doi.org/10.1242/jeb.220129>
- O'Donnell, M. J., Regish, A. M., McCormick, S. D. & Letcher, B. H. (2020). How repeatable is CTmax within individual brook trout over short-and long-time intervals? *Journal of Thermal Biology*, 89, 102559. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102559>
- Oliva-Teles, A. (2012). Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of fish diseases*, 35(2), 83-108. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x>
- Osellame, L. D., Blacker, T. S. & Duchen, M. R. (2012). Cellular and molecular mechanisms of mitochondrial function. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 26(6), 711-723. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2012.05.003>
- Padfield, D., Castledine, M. & Buckling, A. (2020). Temperature-dependent changes to host-parasite interactions alter the thermal performance of a bacterial host. *The ISME Journal*, 14, 389-398. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0526-5>
- Pankhurst, N. W. & Munday, P. L. (2011). Effects of climate change on fish reproduction and early life history stages. *Marine and Freshwater Research*, 62(9), 1015-1026. <https://doi.org/10.1071/MF10269>
- Panov, A. V. & Dikalov, S. I. (2020). Cardiolipin, perhydroxyl radicals, and lipid peroxidation in mitochondrial dysfunctions and aging. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1323028. <https://doi.org/10.1155/2020/1323028>
- Patel, R., Rinker, L., Peng, J. & Chilian, W. M. (2018). Reactive Oxygen Species: The Good and the Bad. In C. Filip & E. Albu (dir.), *Reactive oxygen species (ROS) in living cells* (1er ed., p. 7-20). IntechOpen
- Patterson, E., Wall, R., Fitzgerald, G. F., Ross, R. P. & Stanton, C. (2012). Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids. *Journal of nutrition and metabolism*, 2012, 539426. <https://doi.org/10.1155/2012/539426>
- Pêches et Océans Canada. (2010). *Enquête de 2010 sur la pêche récréative au Canada*. <https://www.dfo-mpo.gc.ca/stats/rec/can/2010/index-fra.htm>
- Perry, G. M. L., Danzmann, R. G., Ferguson, M. M. & Gibson, J. P. (2001). Quantitative trait loci for upper thermal tolerance in outbred strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Heredity*, 86, 333-341. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00838.x>

- Perry, A. L., Low, P. J., Ellis, J. R. & Reynolds, J. D. (2005). Climate change and distribution shifts in marine fishes. *Science*, 308(5730), 1912-1915. DOI: 10.1126/science.1111322
- Pfeiffer, K., Gohil, V., Stuart, R. A., Hunte, C., Brandt, U., Greenberg, M. L. & Schägger, H. (2003). Cardiolipin stabilizes respiratory chain supercomplexes. *Journal of biological chemistry*, 278(52), 52873-52880. <https://doi.org/10.1074/jbc.M308366200>
- Poppe, T. T., Johansen, R., Gunnes, G. & Tørud, B. (2003). Heart morphology in wild and farmed Atlantic salmon *Salmo salar* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Diseases of aquatic organisms*, 57(1-2), 103-108. DOI:10.3354/dao057103
- Pörtner, H. O. (2001). Climate change and temperature-dependent biogeography: oxygen limitation of thermal tolerance in animals. *Naturwissenschaften*, 88, 137-146. <https://doi.org/10.1007/s001140100216>
- Pörtner, H. O., Berdal, B., Blust, R., Brix, O., Colosimo, A., De Wachter, B., ... & Zakhartsev, M. (2001). Climate induced temperature effects on growth performance, fecundity and recruitment in marine fish: developing a hypothesis for cause and effect relationships in Atlantic cod (*Gadus morhua*) and common eelpout (*Zoarces viviparus*). *Continental Shelf Research*, 21(18-19), 1975-1997. [https://doi.org/10.1016/S0278-4343\(01\)00038-3](https://doi.org/10.1016/S0278-4343(01)00038-3)
- Pörtner, H. O. (2002). Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 132(4), 739-761. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00045-4](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00045-4)
- Pörtner, H. O. & Knust, R. (2007). Climate change affects marine fishes through the oxygen limitation of thermal tolerance. *Science*, 315(5808), 95-97. DOI: 10.1126/science.1135471
- Pörtner, H. O., Bock, C. & Mark, F. C. (2017). Oxygen-and capacity-limited thermal tolerance: bridging ecology and physiology. *Journal of Experimental Biology*, 220(15), 2685-2696. <https://doi.org/10.1242/jeb.134585>
- Puppel, K., Kapusta, A. & Kuczyńska, B. (2015). The etiology of oxidative stress in the various species of animals, a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(11), 2179-2184. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7015>
- R Core Team. (2020). R: A language and environment for statistical computing (version 4.2.2). [Logiciel] R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.

- Raman, R. P., Prakash, C., Makesh, M. & Pawar, N. A. (2013). Environmental stress mediated diseases of fish: an overview. *Advances in Fish Research*, 5, 141-158.
- Rao, K. P. & Bullock, T. H. (1954). Q10 as a function of size and habitat temperature in poikilotherms. *The American Naturalist*, 88(838), 33-44. <https://doi.org/10.1086/281806>
- Raynard, R. S. & Cossins, A. R. (1991). Homeoviscous adaptation and thermal compensation of sodium pump of trout erythrocytes. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 260(5), R916-R924. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1991.260.5.R916>
- Reckelhoff, J. F., Romero, D. G. & Yanes Cardozo, L. L. (2019). Sex, oxidative stress, and hypertension: insights from animal models. *Physiology*, 34(3), 178-188. <https://doi.org/10.1152/physiol.00035.2018>
- Ricciotti, E. & FitzGerald, G. A. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 31(5), 986-1000. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.207449>
- Rodnick, K. J., Gamperl, A. K., Lizars, K. R., Bennett, M. T., Rausch, R. N. & Keeley, E. R. (2004). Thermal tolerance and metabolic physiology among redband trout populations in south-eastern Oregon. *Journal of Fish Biology*, 64(2), 310-335. <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2004.00292.x>
- Rodríguez, E., Radpfeike, A., Hagen, T. M. & Blier, P. U. (2022). Supercomplex organization of the electron transfer system in marine bivalves, a model of extreme longevity. *The Journals of Gerontology: Series A*, 77(2), 283-290. <https://doi.org/10.1093/gerona/qlab363>
- Roze, T., Christen, F., Amerand, A. & Claireaux, G. (2013). Trade-off between thermal sensitivity, hypoxia tolerance and growth in fish. *Journal of Thermal Biology*, 38(2), 98-106. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2012.12.001>
- Saunders, R. L., Farrell, A. P. & Knox, D. E. (1992). Progression of coronary arterial lesions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) as a function of growth rate. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49(5), 878-884. <https://doi.org/10.1139/f92-098>
- Schlame, M. & Ren, M. (2009). The role of cardiolipin in the structural organization of mitochondrial membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1788(10), 2080-2083. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2009.04.019>

- Schulte, P. M. (2014). What is environmental stress? Insights from fish living in a variable environment. *Journal of Experimental Biology*, 217(1), 23-34. <https://doi.org/10.1242/jeb.089722>
- Schwall, C. T., Greenwood, V. L. & Alder, N. N. (2012). The stability and activity of respiratory Complex II is cardiolipin-dependent. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1817(9), 1588-1596. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2012.04.015>
- Sérot, T., Gandemer, G. & Demaimay, M. (1998). Lipid and fatty acid compositions of muscle from farmed and wild adult turbot. *Aquaculture International*, 6, 331-343. <https://doi.org/10.1023/A:1009284905854>
- Sharma, P., Kumar, V., Sinha, A. K., Ranjan, J., Kithsiri, H. M. P. & Venkateshwarlu, G. (2010). Comparative fatty acid profiles of wild and farmed tropical freshwater fish rohu (*Labeo rohita*). *Fish physiology and biochemistry*, 36, 411-417. <https://doi.org/10.1007/s10695-009-9309-7>
- Shinoda, W. (2016). Permeability across lipid membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1858(10), 2254-2265. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2016.03.032>
- Sindelar, P. J., Guan, Z., Dallner, G. & Ernster, L. (1999). The protective role of plasmalogens in iron-induced lipid peroxidation. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(3-4), 318-324. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00221-4](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00221-4)
- Siriwardhana, N., Kalupahana, N. S. & Moustaid-Moussa, N. (2012). Health benefits of n-3 polyunsaturated fatty acids: eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. *Advances in food and nutrition research*, 65, 211-222. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416003-3.00013-5>
- Sissener, N. H., Torstensen, B. E., Stubhaug, I. & Rosenlund, G. (2016). Long-term feeding of Atlantic salmon in seawater with low dietary long-chain n-3 fatty acids affects tissue status of the brain, retina and erythrocytes. *British Journal of Nutrition*, 115(11), 1919-1929. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114516000945>
- Skalli, A., Robin, J. H., Le Bayon, N., Le Delliou, H. & Person-Le Ruyet, J. (2006). Impact of essential fatty acid deficiency and temperature on tissues' fatty acid composition of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 255(1-4), 223-232. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.12.006>
- Snyder, R. J. & Hennessey, T. M. (2003). Cold tolerance and homeoviscous adaptation in freshwater alewives (*Alosa pseudoharengus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 29, 117-126. <https://doi.org/10.1023/B:FISH.0000035920.60817.11>



- Somero, G. N. (2010). The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine 'winners' and 'losers'. *Journal of Experimental Biology*, 213(6), 912-920. <https://doi.org/10.1242/jeb.037473>
- Spigarelli, S. A., Romberg, G. P., Prepejchal, W., & Thommes, M. M. (1974). Body-temperature characteristics of fish at a thermal discharge on Lake Michigan, *Thermal ecology*, 6(4), 6165298.
- Staniek, K. & Nohl, H. (1999). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detection from intact mitochondria as a measure for one-electron reduction of dioxygen requires a non-invasive assay system. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1413(2), 70-80. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(99\)00083-3](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(99)00083-3)
- Stitt, B. C., Burness, G., Burgomaster, K. A., Currie, S., McDermid, J. L. & Wilson, C. C. (2014). Intraspecific variation in thermal tolerance and acclimation capacity in brook trout (*Salvelinus fontinalis*): physiological implications for climate change. *Physiological and Biochemical Zoology*, 87(1), 15-29. <https://doi.org/10.1086/675259>
- Stocker, T. (2014). *Climate change 2013: the physical science basis: Working Group I contribution to the Fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge university press.
- Sunday, J. M., Bates, A. E. & Dulvy, N. K. (2012). Thermal tolerance and the global redistribution of animals. *Nature Climate Change*, 2, 686-690. <https://doi.org/10.1038/nclimate1539>
- Szeto, H. H. (2014). First-in-class cardiolipin-protective compound as a therapeutic agent to restore mitochondrial bioenergetics. *British journal of pharmacology*, 171(8), 2029-2050. <https://doi.org/10.1111/bph.12461>
- Tarricone, S., Caputi Jambrenghi, A., Cagnetta, P. & Ragni, M. (2022). Wild and Farmed Sea Bass (*Dicentrarchus Labrax*): Comparison of Biometry Traits, Chemical and Fatty Acid Composition of Fillets. *Fishes*, 7(1), 45. <https://doi.org/10.3390/fishes7010045>
- Tello, D., Balsa, E., Acosta-Iborra, B., Fuertes-Yebra, E., Elorza, A., Ordóñez, Á., ... & Landázuri, M. O. (2011). Induction of the mitochondrial NDUFA4L2 protein by HIF-1 $\alpha$  decreases oxygen consumption by inhibiting Complex I activity. *Cell metabolism*, 14(6), 768-779. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.10.008>

- Tian, J. J., Lei, C. X., Ji, H., Kaneko, G., Zhou, J. S., Yu, H. B., ... & Xie, J. (2017). Comparative analysis of effects of dietary arachidonic acid and EPA on growth, tissue fatty acid composition, antioxidant response and lipid metabolism in juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. *British Journal of Nutrition*, 118(6), 411-422. DOI: <https://doi.org/10.1017/S000711451700215X>
- Tian, J. J., Lei, C. X., Ji, H., Zhou, J. S., Yu, H. B., Li, Y., ... & Xie, J. (2019). Dietary arachidonic acid decreases the expression of transcripts related to adipocyte development and chronic inflammation in the adipose tissue of juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 30, 122-132. <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2019.02.006>
- Tocher, D. R. (2003). Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in fisheries science*, 11(2), 107-184. <https://doi.org/10.1080/713610925>
- Toli, E. A., Noreikiene, K., DeFaveri, J. & Merilä, J. (2017). Environmental enrichment, sexual dimorphism, and brain size in sticklebacks. *Ecology and evolution*, 7(6), 1691-1698. <https://doi.org/10.1002/ece3.2717>
- Turrens, J. F., Freeman, B. A., Levitt, J. G. & Crapo, J. D. (1982). The effect of hyperoxia on superoxide production by lung submitochondrial particles. *Archives of biochemistry and biophysics*, 217(2), 401-410. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(82\)90518-5](https://doi.org/10.1016/0003-9861(82)90518-5)
- Uchida, K. (2003). 4-Hydroxy-2-nonenal: a product and mediator of oxidative stress. *Progress in lipid research*, 42(4), 318-343. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(03\)00014-6](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(03)00014-6)
- Ungvari, Z., Csiszar, A., Sosnowska, D., Philipp, E. E., Campbell, C. M., McQuary, P. R., ... & Ridgway, I. (2012). Testing predictions of the oxidative stress hypothesis of aging using a novel invertebrate model of longevity: the giant clam (*Tridacna derasa*). *Journals of Gerontology Series A*, 68(4), 359-367. <https://doi.org/10.1093/gerona/gls159>
- United States Geological Survey. Nonindigenous Aquatic Species Database. (2019). *Salvelinus fontinalis* (Mitchill, 1814). Pam Fuller & Matt Neilson. <https://nas.er.usgs.gov/queries/factsheet.aspx?SpeciesID=939>
- van der Veen, J. N., Kennelly, J. P., Wan, S., Vance, J. E., Vance, D. E. & Jacobs, R. L. (2017). The critical role of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine metabolism in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1859(9), 1558-1572. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.04.006>

- van Dooremalen, C., Suring, W. & Ellers, J. (2011). Fatty acid composition and extreme temperature tolerance following exposure to fluctuating temperatures in a soil arthropod. *Journal of Insect Physiology*, 57(9), 1267-1273. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2011.05.017>
- Verberk, W. C. E. P., Bilton, D. T., Calosi, P. & Spicer, J. I. (2011). Oxygen supply in aquatic ectotherms: partial pressure and solubility together explain biodiversity and size patterns. *Ecology*, 92(8), 1565-1572. <https://doi.org/10.1890/10-2369.1>
- Vinagre, C., Madeira, D., Narciso, L., Cabral, H. N. & Diniz, M. (2012). Effect of temperature on oxidative stress in fish: lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Ecological indicators*, 23, 274-279. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.04.009>
- von der Malsburg, K., Müller, J. M., Bohnert, M., Oeljeklaus, S., Kwiatkowska, P., Becker, T., ... & van der Laan, M. (2011). Dual role of mitofilin in mitochondrial membrane organization and protein biogenesis. *Developmental cell*, 21(4), 694-707. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.08.026>
- Wallaert, C. & Babin, P. J. (1994). Thermal adaptation affects the fatty acid composition of plasma phospholipids in trout. *Lipids*, 29(5), 373-376. <https://doi.org/10.1007/BF02537193>
- Wiltshire, K. H. & Manly, B. F. J. (2004). The warming trend at Helgoland Roads, North Sea: phytoplankton response. *Helgoland Marine Research*, 58(4), 269-273. <https://doi.org/10.1007/s10152-004-0196-0>
- Xu, H., Ai, Q., Mai, K., Xu, W., Wang, J., Ma, H., ... & Liufu, Z. (2010). Effects of dietary arachidonic acid on growth performance, survival, immune response and tissue fatty acid composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, 307(1-2), 75-82. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.07.001>
- Xu, H., Wang, J., Mai, K., Xu, W., Zhang, W., Zhang, Y. & Ai, Q. (2016). Dietary docosahexaenoic acid to eicosapentaenoic acid (DHA/EPA) ratio influenced growth performance, immune response, stress resistance and tissue fatty acid composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier). *Aquaculture Research*, 47(3), 741-757. <https://doi.org/10.1111/are.12532>
- Xu, Y., Erdjument-Bromage, H., Phoon, C. K., Neubert, T. A., Ren, M. & Schlame, M. (2021). Cardiolipin remodeling enables protein crowding in the inner mitochondrial membrane. *The EMBO Journal*, 40(23), e108428. <https://doi.org/10.15252/emj.2021108428>

- Xu, H., Meng, X., Wei, Y., Ma, Q., Liang, M., & Turchini, G. M. (2022). Arachidonic acid matters. *Reviews in Aquaculture*, 14(4), 1912-1944. <https://doi.org/10.1111/raq.12679>
- Yamaguchi, T., Yagi, S., Nakano, T., Takeuchi, M. & Sato, M. (2002). Plasmalogen of fish lipoprotein. *Fisheries science*, 68(2), 1202-1205. [https://doi.org/10.2331/fishsci.68.sup2\\_1202](https://doi.org/10.2331/fishsci.68.sup2_1202)
- Yan, Y. & Xie, X. (2015). Metabolic compensations in mitochondria isolated from the heart, liver, kidney, brain and white muscle in the southern catfish (*Silurus meridionalis*) by seasonal acclimation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 183, 64-71. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2014.12.011>
- Yavin, E., Brand, A. & Green, P. (2002). Docosahexaenoic acid abundance in the brain: a biodevice to combat oxidative stress. *Nutritional Neuroscience*, 5(3), 149-157. <https://doi.org/10.1080/10284150290003159>
- Yin, H., Xu, L. & Porter, N. A. (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical reviews*, 111(10), 5944-5972. <https://doi.org/10.1021/cr200084z>
- Z erouga, M., Beaug e, F., Niel, E., Durand, G. & Bourre, J. M. (1991). Interactive effects of dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids and chronic ethanol intoxication on synaptic membrane lipid composition and fluidity in rats. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 1086(3), 295-304. [https://doi.org/10.1016/0005-2760\(91\)90173-F](https://doi.org/10.1016/0005-2760(91)90173-F)
- Zhang, M., Mileykovskaya, E. & Dowhan, W. (2005). Cardiolipin is essential for organization of complexes III and IV into a supercomplex in intact yeast mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*, 280(33), 29403-29408. DOI: 10.1074/jbc.M504955200
- Zuo, L., Zhou, T., Pannell, B. K., Ziegler, A. C. & Best, T. M. (2015). Biological and physiological role of reactive oxygen species – the good, the bad and the ugly. *Acta physiologica*, 214(3), 329-348. <https://doi.org/10.1111/apha.12515>



