

JULIE ST-PIERRE

DÉTERMINANTS DE LA CAPACITÉ OXYDATIVE DU MUSCLE ROUGE DE LA
TRUITE ARC-EN-CIEL, *ONCORHYNCHUS MYKISS*

Mémoire
présenté
à la Faculté des études supérieures
de l'Université Laval
pour l'obtention
du grade de maître ès sciences (M.Sc.)

Département de biologie
FACULTÉ DES SCIENCES ET DE GÉNIE
UNIVERSITÉ LAVAL

NOVEMBRE 1997



National Library
of Canada

Acquisitions and
Bibliographic Services

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Bibliothèque nationale
du Canada

Acquisitions et
services bibliographiques

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file *Votre référence*

Our file *Notre référence*

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-25741-X

Canada

Avant-propos

Ce travail a pu se réaliser grâce à l'appui et au soutien de plusieurs personnes. Je tiens tout d'abord à remercier ma directrice, le Dr Helga Guderley, qui m'a permis de vivre une aventure extraordinaire au coeur du métabolisme cellulaire durant quatre années. J'ai particulièrement apprécié nos nombreuses discussions très stimulantes, ainsi que son énergie débordante et son optimisme infaillible. Je suis également très reconnaissante de tout son appui témoigné envers la poursuite de mes études doctorales en Angleterre.

Je remercie le Dr Charest de m'avoir accueillie dans son laboratoire afin que je puisse y effectuer la partie microscopie électronique de mon travail. Son encadrement et ses conseils ont été très importants pour la réussite de ce travail. De plus, je tiens à remercier M. Alain Goulet qui m'a appris, en détails et avec grande patience, tous les aspects techniques de la microscopie électronique.

Je tiens également à remercier le Dr Jacques Larochelle, qui par sa façon singulière de voir la biologie, m'a fait réfléchir longuement sur l'intégration de mes connaissances en physiologie. J'ai aussi apprécié son support linguistique concernant la traduction.

Le Dr Claude Côté m'a fourni une aide considérable dans la compréhension des propriétés contractiles musculaires. Je lui suis très reconnaissante pour sa grande disponibilité.

Mes sincères remerciements à toutes les personnes qui ont bien voulu répondre à mes nombreuses demandes de lettres de référence, soit les Drs Guderley, Larochelle, Couture et Mayrand.

La participation active des laboratoires des Drs Guderley, Larochelle et Lapointe au "Groupe de discussion en physiologie" fut une expérience très enrichissante.

Sur un plan plus personnel, je tiens tout d'abord à remercier ma famille, plus particulièrement ma mère, pour avoir témoigné une confiance inconditionnelle à mon égard. Je tiens aussi à nommer les gens que j'ai cotoyés dans le laboratoire du Dr Guderley au cours de ma maîtrise et qui, par leurs qualités, m'ont rendu la vie très agréable, notamment Phillippe pour sa loyauté, Mery pour sa bonté, Kathy pour son intégrité et Raoul pour sa générosité. Aussi, j'ai vraiment adoré les petites pauses en compagnie d'Hélène Glémet qui me permettaient d'échapper au stress quotidien.

Je dédie ce travail à Damien qui a su comprendre toutes ces heures de travail parfois très longues, et qui surtout fut pour moi une source inépuisable d'inspiration, de motivation et d'encouragements. Merci pour ces idées de grandeur...

Finalement, je dois souligner le support financier que j'ai reçu du Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et en Génie du Canada (CRSNG), de l'Association canadienne-française pour l'avancement des sciences (Acfas) et de la Fondation de l'Université Laval.

Résumé

Cette étude a regardé si des changements quantitatifs accompagnaient les changements qualitatifs des mitochondries dans le muscle rouge de la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*, lors de l'acclimatisation au froid. Pour ce faire, nous avons comparé des mesures effectuées à quatre niveaux d'organisation biologique sur le muscle rouge entre des truites acclimatées aux conditions hivernales (1°C) et d'autres acclimatées aux conditions estivales (16°C). Les mesures étaient (1) les capacités d'oxydation maximale des mitochondries isolées pour le pyruvate et le palmitoyl carnitine, (2) les activités enzymatiques (CCO, CS, CPT et PFK) du muscle et des mitochondries isolées, (3) l'ultrastructure des fibres musculaires et (4) la densité de surface des crêtes des mitochondries. Les mitochondries des truites d'hiver avaient des capacités d'oxydation maximale pour le pyruvate et le palmitoyl carnitine plus élevées que celles des truites d'été. Le niveau de la CCO, de la CS ainsi que de la CPT étaient plus grands dans le muscle rouge des truites d'hiver que celles d'été, alors qu'il n'y avait pas de différences saisonnières dans le niveau de la PFK. L'augmentation du niveau des enzymes aérobies (CCO, CS et CPT) du muscle chez les truites d'hiver pouvait s'expliquer, du moins en partie, par un accroissement de la quantité relative de ces enzymes à l'intérieur des mitochondries. Les études ultrastructurales ont montré que la densité de surface des crêtes des mitochondries des truites d'hiver ($40,2 \pm 0,6 \mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$) était plus élevée que celle des mitochondries des truites d'été ($36,4 \pm 1,2 \mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$), alors qu'il n'y avait aucune différence dans la fraction volumique mitochondriale entre les truites d'hiver ($26,9 \pm 0,9\%$) et celles d'été ($27 \pm 1\%$). Cependant, la fraction volumique des gouttelettes lipidiques était accrue de 33% chez les truites d'hiver comparativement à celles d'été. Ainsi, les mitochondries des truites d'hiver manifestent des changements qualitatifs importants qui ne sont pas accompagnés de changements quantitatifs. Chez la truite arc-en-ciel, ces changements qualitatifs des mitochondries semblent suffisants pour maintenir une capacité aérobie adéquate lors des extrêmes de température qu'elle rencontre. Ensemble, ces données montrent que des changements qualitatifs des propriétés mitochondriales peuvent être aussi importants pour une espèce que des changements quantitatifs lorsqu'il s'agit de conserver une capacité aérobie suffisante au froid.

Table des matières

Avant-propos	I
Résumé	III
Table des matières	IV

Chapitre I Introduction générale

1. Fondements théoriques généraux	2
1.1 Recrutement des unités motrices	3
1.1.1 Propriétés et emploi des fibres musculaires chez les mammifères	3
1.1.2 Propriétés et emploi des fibres musculaires chez les poissons	4
1.2 Recrutement des sentiers métaboliques	5
1.2.1 Glucose, glycolyse anaérobie et glycolyse aérobie	6
1.2.2 Lipides	6
1.2.3 Protéines	7
1.2.4 Mitochondrie et métabolisme aérobie	8
1.3 Variation des préférences de substrats des mitochondries	8
1.3.1 Selon les organismes	8
1.3.2 Selon les tissus	9
2. Modifications des propriétés métaboliques et contractiles du muscle au froid	9
2.1 Modifications des propriétés métaboliques du muscle au froid	10
2.1.1 Capacités oxydatives maximales	11
2.1.2 Diffusion entre les compartiments myofibrillaire et mitochondrial	14
2.1.3 Sensibilité régulatrice	16
2.1.4 Modifications des préférences de substrats	17
2.1.5 Réorganisation membranaire	18
2.2 Modifications des propriétés contractiles du muscle au froid	21
2.2.1 Compensation thermique des capacités locomotrices au niveau de l'organisme entier	22
2.2.2 Mécanismes physiologiques permettant la compensation thermique	22
2.2.2.1 Myosine ATPase	23

2.2.2.2 Propriétés contractiles des fibres.....	24
2.2.2.3 Fraction volumique myofibrillaire	26
2.2.2.4 Recrutement des fibres musculaires	26
2.2.3 Mécanismes moléculaires permettant la compensation thermique.....	27
3. Facteurs non-thermiques entraînant des modifications métaboliques du muscle.....	29
3.1 Concentration d'oxygène.....	29
3.2 Entraînement	30
3.2.1 Endothermes	30
3.2.2 Ectothermes	30
3.3 Disponibilité de la nourriture.....	32
Deux études sur la truite arc-en-ciel supposent des conclusions contradictoires.....	34
Projet de maîtrise.....	35
Hypothèses.....	35
Chapitre II Déterminants de la capacité oxydative du muscle rouge	
de la truite arc-en-ciel, <i>Oncorhynchus mykiss</i>	
Introduction	38
Matériel et Méthode	42
Résultats	50
Discussion.....	65
Chapitre III Conclusion générale	70
Références.....	73

Chapitre I

Introduction générale

1. Fondements théoriques généraux

Plusieurs facteurs environnementaux peuvent influencer les organismes vivants. Au cours de l'évolution, de nombreuses adaptations génétiques se sont avérées nécessaires afin de permettre aux espèces de bien survivre dans un environnement donné. Parmi celles-ci, on retrouve la présence des gènes de plasticité. Ces derniers répondent à des stimuli environnementaux importants pour la survie d'un organisme donné et lui permettent de moduler son phénotype. Comme exemples de protéines encodées par des gènes de plasticité, on retrouve les phytochromes qui contrôlent la réponse à la lumière chez les plantes à fleurs, les phycocyanines qui sont impliquées dans la plasticité adaptative aux limitations en sulfure chez les cyanobactéries et les protéines de choc thermique qui modulent la réponse de choc thermique (Pigliucci, 1996). L'omniprésence des gènes de choc thermique à travers les règnes et la grande conservation des protéines encodées par ceux-ci montrent bien l'importance de la température sur la physiologie des organismes vivants.

En effet, la température semble être le facteur environnemental qui a la plus grande influence sur les phénomènes biologiques et biochimiques. Ceci est particulièrement vrai pour les ectothermes, en particulier les poissons, car ils sont en constant équilibre thermique avec leur environnement. Les échanges thermiques sont plus rapides que la diffusion des molécules, et lorsque les échanges gazeux s'effectuent au niveau des branchies, un équilibre thermique s'établit entre l'eau et le sang (Hazel et Prosser, 1974). Afin de s'adapter aux conditions thermiques présentes dans leur milieu, les poissons doivent manifester une relativement grande plasticité physiologique. Le muscle semble être le tissu qui est le plus adaptable (Sänger, 1993). Ceci n'est pas surprenant lorsqu'on regarde l'importance du système musculaire dans différentes activités essentielles à la survie comme la fuite des prédateurs, la recherche de nourriture et la reproduction. Ainsi, j'ai regardé l'influence de la température sur le système musculaire oxydatif de la truite arc-en-ciel pour mon projet de maîtrise.

Cette première section a comme objectif de décrire les organisations structurale et métabolique du système musculaire des poissons en les comparant à celles des mammifères. Par la suite, nous regarderons les effets de la température sur l'organisation métabolique et les

propriétés contractiles du muscle des poissons. La dernière section abordera l'influence des facteurs non-thermiques sur le système musculaire des poissons.

1.1 Recrutement des unités motrices

Il existe deux façons de moduler la puissance mécanique d'un muscle, soit en recrutant un nombre variable d'unités motrices, soit en variant la fréquence de stimulation des unités motrices. En effet, si la fréquence d'arrivée des potentiels à la jonction neuromusculaire est lente, il y aura production de secousses individuelles, alors que si la fréquence d'arrivée est rapide, il y aura un téтанos. La force générée par une fibre est relativement faible lors d'une secousse, alors que la force produite durant un téтанos est environ cinq fois plus élevée (Withers, 1992).

1.1.1 Propriétés et emploi des fibres musculaires chez les mammifères

Il existe deux principaux types de fibres musculaires chez les mammifères, soit les fibres toniques et les fibres phasiques. Les fibres toniques possèdent une conduction très lente et requièrent plusieurs stimulations afin de se contracter complètement. De plus, elles répondent à une stimulation par une contraction graduelle. Ces fibres sont impliquées dans le maintien de la posture. De leur côté, les fibres phasiques sont divisées en fibres lentes et rapides. Il y a tout d'abord les fibres phasiques lentes, qui se contractent relativement lentement et qui sont très résistantes à la fatigue, car elles utilisent principalement un métabolisme aérobie pour produire de l'ATP. Elles ont une puissance maximale faible, et sont donc impliquées dans des activités comme le maintien de la posture et la locomotion à basse vitesse. Deuxièmement, il y a les fibres phasiques glycolytiques rapides qui utilisent surtout le métabolisme anaérobie pour la formation d'ATP et qui génèrent ainsi du lactate. Ces fibres, bien qu'elles se contractent rapidement, se fatiguent en quelques secondes. Elles sont recrutées lors d'exercices qui demandent une puissance très élevée. Finalement, il y a les fibres phasiques oxydatives rapides qui utilisent les métabolismes aérobie et anaérobie pour satisfaire la production d'ATP. Ces fibres ont une puissance mécanique et un temps de fatigue similaires aux fibres phasiques rapides et aux fibres phasiques lentes respectivement. Les fibres phasiques oxydatives possèdent un contenu mitochondrial très élevé, ce qui leur permet de produire rapidement de

l'ATP et d'éviter la fatigue à court terme (Withers, 1992).

1.1.2 Propriétés et emploi des fibres musculaires chez les poissons

Les poissons possèdent trois principaux types de fibres musculaires: les rouges, les roses et les blanches. Les fibres rouges se caractérisent par une grande concentration de myoglobine et une perfusion sanguine élevée, ce qui leur confère leur couleur caractéristique. Les fibres rouges possèdent également une grande fraction volumique mitochondriale (25- 50% du volume des fibres rouges peut être composé de mitochondries). Par contre, les fibres blanches ont seulement de 0,5 à 8% de leur volume occupé par des mitochondries. Ainsi, on retrouve une plus grande fraction du volume du muscle blanc occupée par des myofibrilles (80-96%) comparativement au muscle rouge (40-60%). Le muscle rouge et le muscle blanc possèdent un réticulum sarcoplasmique et un système de tubules en T bien développés. Le muscle rouge possède plus de particules de glycogène et de gouttelettes lipidiques que le muscle blanc (Johnston, 1981). Le muscle rouge possède donc une plus grande capacité oxydative que le muscle blanc. Le muscle blanc s'appuie principalement sur un métabolisme anaérobie. Soulignons que le muscle rose semble avoir une position intermédiaire entre le muscle rouge et le muscle blanc pour ce qui est de la fraction volumique mitochondriale et de l'empaquetage des myofibrilles (Johnston, 1981).

Chez les poissons, on reconnaît trois principaux types de nage, soit la nage soutenue, la nage prolongée et la nage à vitesse de pointe (Beamish, 1978; Webb, 1978). La nage soutenue peut être maintenue presque indéfiniment, alors que la nage prolongée ne peut être supportée que pour quelques heures. Pour sa part, la nage à vitesse de pointe ne peut durer plus de quelques secondes. Chez les poissons plus primitifs, le muscle rouge est utilisé pour la nage à vitesse soutenue, alors que seul le muscle blanc est impliqué dans la nage à vitesse de pointe. Donc, il y a des divisions anatomiques et fonctionnelles complètes entre les systèmes moteurs rapide et lent. Par contre, pour la majorité des téléostéens, la division fonctionnelle ne semble pas aussi complète. Effectivement, le muscle blanc et le muscle rouge seraient recrutés pour la nage à des vitesses soutenues élevées (nage prolongée) (Johnston, 1981). De plus, chez l'omble de fontaine, un poisson très actif, l'électromyographie démontre que le muscle blanc et le

muscle rouge sont recrutés durant la nage soutenue (3 longueurs de corps/seconde; Johnston et Moon, 1980). L'activité de la cytochrome C oxydase (CCO) et celle de la citrate synthase (CS) dans le muscle blanc représentent 25 à 35% de l'activité de ces enzymes dans le muscle rouge (Johnston et Moon, 1980). Ceci indique un certain potentiel oxydatif pour le muscle blanc.

Plusieurs études appuient la théorie voulant que, chez les vertébrés ectothermes, le recrutement des fibres blanches vient s'ajouter à celui des fibres rouges à des vitesses de locomotion élevées. Par contre, l'étude de Jayne & Lauder (1994) sur le crapet arlequin (*Lepomis macrochirus*) a démontré un tout nouveau patron de recrutement des différents types de fibres musculaires lors de la nage. Lors de la nage soutenue, seulement les fibres rouges sont recrutées jusqu'à une intensité de 70% du niveau maximum. Lorsque le muscle blanc est recruté et que son niveau d'activité est encore faible, on observe encore une augmentation de l'activité du muscle rouge. Ensuite, une légère hausse de l'activité du muscle blanc est accompagnée d'une grande diminution, d'environ 75%, de l'activité du muscle rouge. Finalement, l'activité du muscle blanc augmente indépendamment de l'activité du muscle rouge. L'activité du muscle rouge est pratiquement inexistante à de grandes vitesses de nage. Bref, à vitesse élevée, il y aurait un recrutement exclusif des fibres blanches. La variabilité des résultats obtenus entre les différentes études pourrait s'expliquer, entre autre, par des patrons d'innervation différents chez les taxa étudiés ou par des différences dans les protocoles expérimentaux.

1.2 Recrutement des sentiers métaboliques

L'énergie nécessaire pour appuyer le travail musculaire est fournie par différents sentiers métaboliques qui sont relativement spécifiques pour une intensité d'exercice donnée. L'ATP généré par ces voies métaboliques est utilisé par la myosine ATPase durant la contraction musculaire.

1.2.1 Glucose, glycolyse anaérobie et glycolyse aérobie

Lorsqu'un exercice est exécuté, il y a un recrutement précis des différents sentiers métaboliques (Wilmore et Costill, 1994). Tout d'abord, les réserves en ATP sont entamées. À l'intérieur des cellules, il y a seulement une petite réserve d'ATP. En effet, il y en a à peine pour faire un exercice maximal durant quelques secondes seulement. Étant donné que l'ATP ne peut provenir de la circulation sanguine ou de d'autres tissus, il doit être régénéré à l'intérieur même de la cellule lorsque la demande en énergie augmente. On peut régénérer de l'ATP en absence d'oxygène grâce à la créatine kinase, une enzyme qui transfère le phosphate de la phosphocréatine sur une molécule d'ADP pour régénérer de l'ATP.

Ensuite vient la glycolyse qui s'effectue dans le cytoplasme. La glycolyse consiste en une série de réactions qui transforment le glucose ou le glycogène en pyruvate ou en lactate. Lorsqu'un exercice de forte intensité est effectué, tous les hydrogènes liés au NADH ne peuvent entrer dans la chaîne respiratoire et se combinent avec le pyruvate. Cette réaction produit du lactate et régénère du NAD^+ , ce qui permet à la glycolyse de se poursuivre. Dans ces conditions, on parle de glycolyse anaérobie. Lorsqu'un exercice d'intensité modérée est effectué, il y a suffisamment d'oxygène pour que les hydrogènes soient oxydés au fur et à mesure qu'ils sont produits. Dans ces conditions, on parle de glycolyse aérobie, et c'est le pyruvate qui est le principal produit de cette série de réactions. Le pyruvate formé lors de la glycolyse aérobie est transformé en acétyl Coenzyme A grâce à la pyruvate déshydrogénase (PDH). L'acétyl coenzyme A entre par la suite dans le cycle de Krebs où il est dégradé en dioxyde de carbone et en atomes d'hydrogène. Ces atomes d'hydrogène sont oxydés grâce à des processus impliquant la chaîne de transport d'électrons et la phosphorylation oxydative. Ceci entraîne la régénération d'ATP (McArdle *et al.*, 1986).

1.2.2 Lipides

Les lipides sont utilisés chez les mammifères (McArdle *et al.*, 1986) et les poissons (Van den Thillart, 1986; Barton *et al.*, 1995) lors d'un exercice qui repose sur l'utilisation du métabolisme aérobie. Les gras sont présents dans toutes les cellules, mais la plus grande quantité est entreposée dans les adipocytes. La lipase brise les triglycérides et génère du

glycérol et trois acides gras. Le glycérol peut être accepté dans la voie de la glycolyse aérobie comme 3-phosphoglyceraldéhyde et générer du pyruvate. Ce dernier entrera dans le cycle de Krebs et entraînera la formation d'ATP. De leur côté, les acides gras entrent dans le cycle de la β -oxydation, qui a lieu dans la matrice mitochondriale, et sont transformés en acétyl Coenzyme A. Ce dernier entre dans le cycle de Krebs. De plus, il y a libération d'hydrogènes lors de la β -oxydation. Ces hydrogènes sont oxydés via la chaîne respiratoire.

Les acides gras peuvent également être oxydés par les peroxysomes, mais cette oxydation n'entraîne pas la formation d'ATP. Une étude de Crockett et Sidell (1993) montre effectivement que les mitochondries hépatiques et les peroxysomes du chaboisseau à dix-huit épines (*Myoxocephalus octodecimspinosus*) peuvent oxyder le palmitoyl CoA (16 carbones). Néanmoins, la sélectivité de la β -oxydation peroxysomale pour les substrats semble plus grande que celle des mitochondries.

1.2.3 Protéines

Les acides aminés en provenance des protéines tissulaires ou alimentaires peuvent aussi servir de substrat énergétique pour les mitochondries (McArdle *et al.*, 1986). En effet, ils sont utilisés fréquemment comme substrat énergétique durant les périodes de jeûne chez les mammifères (Hochachka et Somero, 1984). Chez les poissons, les acides aminés sont utilisés durant la vie régulière et les périodes de jeûne. En effet, les poissons qu'on retrouve dans des étendues d'eau avec beaucoup de courant, comme la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) et l'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*), utilisent les acides aminés comme substrat énergétique lors de la nage (Van den Thillart, 1986; Barton *et al.*, 1995). Afin de pouvoir utiliser les acides aminés comme substrat énergétique, des réactions de désamination ou de transamination doivent se produire. Ces réactions servent à enlever les groupements contenant de l'azote sur les acides aminés, soit directement, soit en les transférant à un autre composé. La majorité de ces réactions s'effectuent dans le foie, bien que le muscle squelettique possède aussi des transaminases. Par la suite, les groupements carbonés restants peuvent générer, via différentes réactions, des composés qui peuvent entrer dans le cycle de Krebs.

1.2.4 Mitochondrie et métabolisme aérobie

Lors de la glycolyse complète, des 32 ATP produits, 3 proviennent de la glycolyse anaérobie et 29 de la glycolyse aérobie. Précisons que 3 ATP/unité glucosyl sont générés directement par la glycolyse anaérobie et que les deux NADH alors produits contribuent à la formation de 4,5 ATP. Ces derniers sont produits via l'oxydation du NADH couplée à la phosphorylation de l'ADP dans la mitochondrie. Le cycle de Krebs, pour sa part, produit seulement 2 ATP/unité glucosyl, mais huit NADH et deux FADH sont générés amenant la formation de 23 ATP (2,5 ATP/NADH et 1,5 ATP/FADH) (Brand, 1994). De plus, l'oxydation des lipides entraîne la formation de 18% de plus d'ATP/carbone que celle du glycogène, soit 104 ATP pour le palmitate, un acide gras de 16 carbones (Brand, 1994). Encore une fois, c'est l'oxydation des NADH et celle des FADH produits lors de la β -oxydation dans la mitochondrie qui génèrent la presque totalité des ATP.

1.3 Variation des préférences de substrats des mitochondries

Bien que les mitochondries soient toujours le site d'oxydation des substrats, les mitochondries provenant d'organismes ou de tissus différents peuvent manifester des préférences de substrats distinctes (pour un article de revue voir Moyes *et al.*, 1990).

1.3.1 Selon les organismes

L'étude de Zammit et Newsholme (1979) laissait entrevoir des différences dans les préférences de substrats des mitochondries entre les téléostéens et les élastombranchés. En comparant l'activité des enzymes impliquées dans le métabolisme des lipides et des corps cétoniques du muscle rouge et du muscle cardiaque chez trois téléostéens (*Pleuronectes platessa*, *Dicentrarchus labrax*, *Scombrus scombrus*) et quatre élastombranchés (*Scylliorhinus canicula*, *Raja clavata*, *Squalus acanthias* et *Mustelus asterias*), ils ont découvert que les téléostéens utilisent préférentiellement les triacylglycérols, les acides gras et l'acétoacétate, alors que les élastombranchés préfèrent les corps cétoniques (Zammit et Newsholme, 1979). Ainsi, les taux d'oxydation de la glutamine et du β -hydroxybutyrate par les mitochondries

isolées du muscle rouge des élasmobranches sont plus élevés que celui du pyruvate (Ballantyne *et al.*, 1992; Chamberlin et Ballantyne, 1992), et l'oxydation du palmitoyl carnitine y est indétectable (Ballantyne *et al.*, 1992). Par contre, les mitochondries isolées du muscle rouge des téléostéens présentent en général des taux d'oxydation similaires pour le pyruvate et le palmitoyl carnitine (Moyes *et al.*, 1989; Kiessling et Kiessling, 1993; Johnston *et al.*, 1994; Guderley *et al.*, sous presse).

1.3.2 Selon les tissus

Les mitochondries isolées du muscle rouge semblent avoir des préférences de substrat plus larges que les mitochondries isolées du muscle blanc. L'étude de Moyes *et al.* (1989) montre que les mitochondries isolées du muscle rouge de la carpe peuvent utiliser plusieurs substrats, dont les acides gras, le pyruvate et les acides aminés. Par contre, les mitochondries isolées du muscle blanc semblent spécialisées pour l'emploi du pyruvate. Lors d'un exercice intense, il y a génération de lactate dans le muscle squelettique. Le pyruvate utilisé par les mitochondries du muscle blanc proviendrait du lactate via la lactate déshydrogénase (LDH).

2. Modifications des propriétés métaboliques et contractiles du muscle au froid

L'adaptation des ectothermes à leur environnement peut être médiée par cinq types de compensation métabolique: (1) surcompensation, (2) compensation parfaite: les taux mesurés seraient les mêmes pour deux températures d'acclimatation, (3) compensation partielle, (4) pas de compensation et (5) compensation inverse: le taux mesuré après une acclimatation au froid serait plus petit que celui mesuré après un transfert direct du chaud au froid (Precht *et al.*, 1973). Lorsqu'une diminution de température survient dans le milieu, les poissons peuvent soit demeurer actifs, soit entrer en dormance (chute des activités métaboliques; Guderley, 1990), adoptant la stratégie qui convient le mieux à leur budget énergétique. Chez les poissons qui entrent en dormance durant une partie de la période froide, comme le poisson rouge (*Carassius auratus*) et la carpe (*Carassius carassius*), on observe une compensation inverse du taux métabolique. Cependant, ces derniers ainsi que la majorité des espèces de poissons demeurant actifs au froid, dont le bar rayé (*Morone saxatilis*) et le crapet vert (*Lepomis cyanellus*), démontrent une compensation positive de la capacité oxydative de leur musculature de nage. La

meilleure explication adaptative de cette compensation chez les poissons demeurant actifs au froid est qu'elle pourrait permettre un maintien du taux de production aérobie d'ATP, lequel semble limité à basse température, entraînant une conservation de la capacité de nage soutenue. Pour les espèces entrant en dormance durant une partie de la période froide, une augmentation de la capacité oxydative musculaire pourrait avoir une importance adaptative lors des périodes de froid qui précèdent ou qui suivent cette dépression métabolique, ainsi que lors des excursions occasionnelles durant leur dormance (Guderley, 1990). Des modifications des propriétés contractiles surviennent dans le muscle des poissons exposés à de basses températures présumément afin de conserver une capacité de production de force mécanique adéquate pour la nage. La conservation de la capacité de nage est essentielle à la survie des poissons demeurant actifs au froid, car ceci leur permet d'aller chercher de la nourriture et de se défendre contre les prédateurs. De plus, cette conservation des capacités locomotrices au froid chez les poissons entrant en dormance peut être importante lors de leurs périodes d'activités transitoires.

2.1 Modifications des propriétés métaboliques du muscle au froid

Les réponses adaptatives qui surviennent durant la vie d'un organisme et qui se produisent durant une période assez longue pour permettre, par exemple, l'induction de nouveaux types de protéines sont appelées acclimations ou acclimatisations. Les réponses adaptatives qui surviennent dans l'habitat naturel d'un organisme, où plusieurs facteurs environnementaux en plus du facteur d'intérêt varient, sont appelées acclimatisations. Les réponses adaptatives induites en laboratoire en réponse à un seul facteur environnemental sont nommées acclimations. Les acclimations/acclimatisations sont restreintes à des changements phénotypiques (Hochachka et Somero, 1984).

Plusieurs études sur le muscle squelettique des poissons démontrent qu'il y a une réorganisation du métabolisme musculaire au profit de la capacité aérobie lors d'une acclimation/acclimatisation au froid. Cette réorganisation suggère que certaines fonctions deviennent limitantes à basses températures. Ces limitations peuvent refléter (1) les capacités oxydatives maximales du muscle, (2) la diffusion entre les compartiments myofibrillaire et

mitochondrial et/ou (3) une perte de sensibilité régulatrice. De plus, afin de maximiser la production d'énergie à basse température, il y a utilisation préférentielle des composés qui sont riches en énergie. Notons finalement que les membranes des cellules subissent aussi des réorganisations au froid afin de maintenir une fluidité et une perméabilité adéquates pour la conservation des fonctions biologiques.

2.1.1 Capacités oxydatives maximales

Un des premiers indices pouvant suggérer que les capacités oxydatives maximales sont diminuées au froid est que l'on observe chez plusieurs espèces de poissons acclimatés au froid une augmentation de la proportion de muscle rouge dans la musculature de nage (Johnston et Lucking, 1978; Sidell, 1980; Jones et Sidell, 1982; Rodnick et Sidell, 1994). Cette augmentation de la masse du muscle rouge serait due à une hyperplasie (Egginton et Sidell, 1989). Également, le fait que les taux d'oxydation de l'acétate et du palmitate dans le muscle des truites arc-en-ciel acclimatées au froid étaient plus élevés que dans le muscle des poissons acclimatés au chaud, lorsque mesurés à une température d'incubation élevée (Dean, 1969), laissait croire à une augmentation, au froid, de certaines enzymes reliées au métabolisme aérobie. Afin de vérifier cette hypothèse, des mesures directes de l'activité des enzymes impliquées dans le métabolisme aérobie ont été effectuées chez plusieurs espèces de poissons acclimatés à différentes températures. Ainsi, les activités de la CCO et de la CS du muscle rouge des barres rayés acclimatés à 5°C sont respectivement 2 et 1,6 fois plus élevées (unités (U)/mg protéine ou unités/g de muscle rouge) que celles du muscle rouge des poissons acclimatés à 25°C (Jones et Sidell, 1982; Sidell, 1983; Rodnick et Sidell, 1994). On obtient des résultats semblables pour l'activité ou la quantité de CCO et de cytochrome C du crapet vert (Shaklee *et al.*, 1977) ainsi que pour la CCO du poisson rouge (Van den Thillart et Modderkolk, 1978).

Certaines espèces, comme le grand corégone (*Coregonus clupeaformis*) (Blier et Guderley, 1988), ne montrent pas une augmentation de la proportion de muscle rouge ni un accroissement de l'activité des enzymes mitochondriales après une acclimatation au froid, indiquant donc un manque de compensation des capacités aérobie face à une diminution de

température. Étant donné que le grand corégone est une espèce sténotherme, ceci laisse suggérer que les espèces eurythermes auraient une plus grande capacité d'adaptation à la température via une compensation des capacités oxydatives. Le fait que la truite arc-en-ciel ne démontre pas, elle non plus, une augmentation des activités de la CCO et de la CS lors de l'acclimatation au froid (Guderley et Gawlicka, 1992) laisse envisager une explication complémentaire. Guderley et Gawlicka suggèrent que ces enzymes ne seraient pas affectées par un changement thermique de 13°C, car les températures d'acclimatation de la truite arc-en-ciel et du grand corégone se situaient en haut et en bas des températures préférées de ces espèces. Par contre, pour la crapet vert, le bar rayé et le poisson rouge, les préférés thermiques, qui sont plus élevés que ceux de la truite arc-en-ciel et du grand corégone, coïncidaient avec les températures d'acclimatation élevées. Donc, une telle diminution de température par rapport aux températures préférées lors de l'acclimatation au froid chez ces espèces pourrait expliquer leur grande réponse métabolique.

Chez les espèces manifestant une réponse compensatrice à l'acclimatation au froid, l'activité des enzymes du métabolisme aérobie est probablement augmentée via une hausse de leur concentration. Néanmoins, une augmentation de la fluidité des membranes lors de l'acclimatation au froid peut accroître l'activité des enzymes membranaires (voir section réorganisation membranaire). En ce qui concerne la hausse de la concentration des enzymes lors de l'acclimatation au froid, Sidell (1977) a démontré ce phénomène pour la cytochrome C du crapet vert. Il suggère que la hausse de la concentration de la cytochrome C pourrait être simplement due aux effets différents de la température sur les constantes de synthèse et de dégradation de cette protéine. La hausse de la fraction volumique mitochondriale qu'on observe chez les poissons adaptés ou acclimatés au froid contribue évidemment à l'augmentation de l'activité des enzymes du métabolisme aérobie. Aussi, il y a, en général, une compensation plus marquée pour les enzymes du compartiment mitochondrial que pour celles du compartiment cytoplasmique (Sidell, 1983) lors d'une acclimatation/acclimatisation au froid.

Une autre façon de regarder si les capacités oxydatives maximales du muscle deviennent limitantes lors d'une exposition au froid est d'effectuer des comparaisons interspécifiques des taux de respiration musculaire de poissons vivant à différentes températures. Johnston (1987) a observé que la consommation d'oxygène stimulée par l'ADP des segments de fibres isolées était plus grande chez les poissons Antarctiques que chez les poissons vivant dans les zones tempérées. Par contre, lorsque les taux de respiration sont exprimés par volume de mitochondries, les résultats sont similaires pour les deux groupes. Ainsi, la hausse de la fraction volumique mitochondriale du muscle des poissons Antarctiques serait responsable de leur plus grande capacité aérobie (Johnston, 1987). Ceci suggère que les ajustements évolutifs dans la sensibilité thermique des mitochondries seraient limités.

L'hypothèse disant que les mitochondries musculaires des organismes vivant dans les habitats froids n'ont pas augmenté significativement leurs capacités maximales à basse température peut être évaluée en comparant la sensibilité thermique des taux d'oxydation maximale des mitochondries isolées du muscle rouge de poissons qui exploitent différents régimes thermiques. Pour chaque espèce de poisson étudiée, les taux d'oxydation maximale du pyruvate et du palmitoyl carnitine des mitochondries musculaires augmentent avec la température d'essai et tendent à s'accroître avec la température de l'habitat (Guderley et St-Pierre, 1996). En effet, les mitochondries du tilapia du Lac Magadi (*Oreochromis alcalicus grahami*) ont un taux d'oxydation du pyruvate beaucoup plus élevé que celles du notothonidé Antarctique (*Notothenia coriiceps*) lorsque mesurés à leur température d'habitat respective, soit 40°C et -1,5°C (Johnston *et al.*, 1994). Néanmoins, une certaine compensation des capacités maximales des mitochondries est présente chez *N. coriiceps*, car l'extrapolation des courbes de thermosensibilité pour l'oxydation du palmitoyl carnitine suggère que les mitochondries de *O. a. grahami* arrêteraient de respirer à 5°C (Johnston *et al.*, 1994; Guderley et St-Pierre, 1996). Aussi, l'oxydation du pyruvate y cesserait à 0,4°C (Johnston *et al.*, 1994; Guderley et St-Pierre, 1996). De plus, la compensation thermique chez les espèces de poissons vivant dans les zones tempérées se manifeste par la ressemblance des taux d'oxydation maximale du pyruvate à la température de l'habitat (Moyes *et al.*, 1988, 1992; Blier et Guderley, 1993a; Johnston *et al.*, 1994; Guderley *et al.*, sous presse). Ainsi, les mitochondries

isolées du muscle des poissons des zones tempérées, qui font face à de plus grandes variations de température, montrent une plus grande compensation des capacités maximales oxydatives que les mitochondries isolées du muscle des poissons Antarctiques qui vivent dans un milieu constamment froid. Ces comparaisons souffrent cependant du fait d'avoir été effectuées entre des espèces très différentes ayant des contraintes locomotrices distinctes. Finalement, mentionnons que les poissons Antarctiques possèdent des activités de la CS et de la CCO plus élevées que les espèces de poissons des zones tempérées (Crockett et Sidell, 1990). Ceci s'expliquerait par une fraction volumique mitochondriale plus considérable chez les espèces de poissons Antarctiques que chez les espèces des zones tempérées.

2.1.2 Diffusion entre les compartiments myofibrillaire et mitochondrial

Plusieurs substances doivent diffuser entre les compartiments myofibrillaire et mitochondrial pour permettre une oxydation efficace des substrats. Ainsi, l'ADP, l'ATP, le pyruvate et l'oxygène doivent être déplacés entre ces compartiments cellulaires. Le froid diminue le coefficient de diffusion pour l'oxygène et certains métabolites entre ces deux compartiments (Sidell, 1983; Tyler et Sidell, 1984; Hubley *et al.*, 1997). L'augmentation du contenu en myoglobine au froid pourrait palier à la diminution du coefficient de diffusion de l'oxygène (Sidell, 1980). Également, la plus grande réserve de lipides retrouvée en général chez les poissons acclimatés au froid pourrait accélérer le flux d'oxygène et apporter un meilleur emmagasinage d'oxygène. Effectivement, l'oxygène a une plus grande solubilité dans les lipides que dans l'eau, mais son coefficient de diffusion est le même pour les deux compartiments (Egginton et Sidell, 1989). Cette augmentation du contenu en lipides dans la musculature de nage avec l'acclimatation au froid se retrouve chez certaines espèces comme le bar rayé (Egginton et Sidell, 1989), le gardon (*Rutilus rutilus*) (Sänger *et al.*, 1990) et la truite arc-en-ciel (Dean, 1969). Par contre, les poissons Antarctiques ont un contenu en lipides musculaires très variable, et parfois même nul (Johnston, 1987). Il a donc été proposé qu'un haut contenu en lipides dans la musculature pourrait indiquer une grande demande pour l'oxydation des lipides, au lieu d'une adaptation pour augmenter le taux de diffusion de l'oxygène (Archer et Johnston, 1991).

Une augmentation de la population mitochondriale au froid a été notée chez plusieurs espèces, dont le bar rayé (Egginton et Sidell, 1989), le gardon et le meunier (*Leuciscus cephalus*) (Sänger *et al.*, 1990) ainsi que le poisson rouge (Tyler et Sidell, 1984). De plus, chez les poissons Antarctiques, la fraction volumique mitochondriale dans le muscle rouge est plus élevée comparativement aux espèces de poissons des zones tempérées (Johnston, 1987). Ainsi, la distance moyenne entre les mitochondries est plus petite chez les poissons Antarctiques que chez les poissons des eaux tempérées (Archer et Johnston, 1991) et diminue avec l'acclimatation au froid (Egginton et Sidell, 1989; Tyler et Sidell, 1984). Il est important de spécifier qu'il n'y a pas une augmentation de la grosseur des mitochondries déjà présentes, mais plutôt une prolifération des mitochondries. Ceci est bien indiqué par le rapport surface/volume des mitochondries qui ne change pas significativement entre les températures d'acclimatation. Une hausse de la fraction volumique mitochondriale au froid pourrait donc faciliter la diffusion de certains métabolites en augmentant la surface sur laquelle les échanges s'effectuent et en diminuant la distance à parcourir avant d'atteindre le site d'oxydation. Cependant, ces changements de la fraction volumique mitochondriale et du parcours diffusif lors de l'acclimatation au froid ne semblent pas modifier la capacité du muscle rouge à maintenir des concentrations constantes d'ATP et de phosphocréatine ainsi qu'à conserver l'énergie libre d'hydrolyse de l'ATP constante à travers la cellule (Hubley *et al.*, 1997). L'accroissement de la quantité de mitochondries au froid pourrait expliquer l'augmentation de la concentration des enzymes mitochondriales citée précédemment. Cette hausse de la concentration des enzymes mitochondriales ne serait peut-être pas seulement là pour compenser les effets de la température sur les phénomènes catalytiques, mais également pour faciliter la diffusion de certains métabolites, en excluant apparemment l'ATP et la phosphocréatine.

L'augmentation de la fraction volumique mitochondriale au froid implique que la musculature a une plus grande capacité à recevoir de l'oxygène. En effet, il y a en général une corrélation linéaire entre l'abondance des mitochondries et celle des capillaires dans la musculature de nage chez les poissons (Fitch *et al.*, 1984; Egginton et Sidell, 1989). Ainsi, dans le muscle blanc des bars rayés acclimatés au froid, parallèlement à l'augmentation de la fraction

volumique mitochondriale (1,5 fois), il y a une augmentation de l'abondance des capillaires (1,5 fois; Egginton et Sidell, 1989). Cette augmentation de la densité des capillaires pourrait palier au manque d'accumulation de lipides dans ce tissu au froid, car pour le muscle rouge, qui affiche une augmentation de son contenu en lipides au froid, on ne note dans les mêmes conditions aucun changement significatif de l'abondance des capillaires, bien que ces derniers se situent plus près des mitochondries (Egginton et Sidell, 1989). Ainsi, une augmentation importante du contenu en lipides dans la musculature au froid pourrait jouer un rôle similaire à une augmentation de la densité des capillaires. Ceci suggère qu'un seul de ces mécanismes serait nécessaire dans un tissu donné lors d'une acclimatation/acclimatisation au froid.

2.1.3 Sensibilité régulatrice

On observe souvent une augmentation de l'affinité des enzymes pour leurs substrats avec une diminution de la température (Hochachka et Somero, 1984). De plus, il semble que les effets de la température sur l'affinité des enzymes pour leurs substrats soient minimisés lorsque le pH covarie avec la température selon la relation observée *in vivo*.

L'augmentation de la fraction volumique mitochondriale au froid chez les poissons pourrait augmenter la sensibilité de la respiration mitochondriale aux modulateurs cytosoliques comme l'ADP (Egginton et Sidell, 1989; Dudley *et al.*, 1987). Aussi, la température et l'acclimatation thermique peuvent changer l'affinité des mitochondries pour leurs substrats, ce qui pourrait modifier l'activité oxydative *in vivo*. Comme c'est le cas pour les enzymes, les effets thermiques sur l'affinité des mitochondries pour leurs substrats semblent réduits lorsque le pH covarie avec la température. En effet, un changement de température de 15 à 8°C, à pH constant, entraîne une diminution du K_M apparent des mitochondries du muscle rouge de la truite arc-en-ciel pour le pyruvate (Blier et Guderley, 1993a). Cependant, quand le pH covarie avec la température, le K_M apparent ne change pas (Blier et Guderley, 1993a). Par contre, chez cette espèce, on note que le K_M apparent pour l'ADP des mitochondries du muscle rouge augmente quand la température diminue, même si le pH covarie avec la température (Blier et Guderley, 1993b). Ceci ressemble à un phénomène observé chez les mammifères. Chez ces derniers, la phosphorylation de l'ADP exogène est diminuée lors d'un abaissement de la

température, alors que celle de l'ADP endogène est peu affectée (Kemp et al., 1969; Klingenberg *et al.*, 1982).

Finalement, l'augmentation du gradient de pH entre la mitochondrie et le milieu cellulaire pourrait faciliter l'entrée de certains substrats. Ceci serait dû au fait que l'entrée de plusieurs substrats dans la mitochondrie dépend de transporteurs de type symport à protons. Si le pH extramitochondrial est maintenu constant, une augmentation de température amène une diminution du gradient de pH mitochondrial chez la carpe commune (*Cyprinus carpio*; Moyes *et al.*, 1988). Cependant, si l'on permet au pH extramitochondrial de covarier avec la température, les gradients de pH mitochondrial sont très similaires pour différentes températures (Moyes *et al.*, 1988). De plus, pour une température donnée, le gradient de pH mitochondrial est inversement relié au pH extramitochondrial (Moyes *et al.*, 1988). Ce dernier phénomène peut avoir une signification métabolique très importante, car le pH intracellulaire diminue durant l'exercice lors de la formation du lactate, et l'oxydation de ce dernier requiert le transport du pyruvate dans la mitochondrie. En effet, les mitochondries de la partie phasique du muscle abducteur du pétoncle tropical (*Euvola (Pecten) ziczac*) démontrent une affinité accrue pour le pyruvate lors d'une diminution de pH, ce qui pourrait permettre un plus haut taux d'oxydation du pyruvate (Guderley *et al.*, 1995). Ceci serait utile dans le processus de récupération de ce muscle plutôt glycolytique.

2.1.4 Modifications des préférences de substrats

Pendant l'adaptation ou l'acclimatation au froid, le catabolisme des lipides est en général augmenté dans la musculature de nage des poissons. Ainsi, le muscle rouge de la truite arc-en-ciel (Dean, 1969) et celui du bar rayé (Jones et Sidell, 1982) oxydent plus rapidement le palmitate quand l'animal est acclimaté au froid qu'au chaud. Une hausse de l'activité des enzymes impliquées dans le métabolisme des acides gras chez les poissons acclimatés au froid pourrait expliquer ce phénomène. Effectivement, on observe que la β -hydroxyacyl CoA déshydrogénase (HOAD) a une activité accrue chez la truite arc-en-ciel acclimatée au froid (Guderley et Gawlicka, 1992; Thibault *et al.*, 1997). Aussi, dans le muscle rouge du bar rayé acclimaté au froid, l'activité de la carnitine palmitoyl transférase (CPT) augmente et la

concentration libre de carnitine, le substrat direct de la CPT 1, s'accroît de 62% (Rodnick et Sidell, 1994). Au niveau mitochondrial, mentionnons que le palmitoyl carnitine est oxydé à un taux similaire à celui du pyruvate chez la majorité des téléostéens (Moyes *et al.*, 1989; Johnston *et al.*, 1994; Guderley *et al.*, sous presse). De plus, les mitochondries isolées du muscle rouge de la truite arc-en-ciel semblent capables de faire la différence entre les acides gras qui servent à la production d'énergie et ceux précurseurs d'acides gras essentiels (Kiessling et Kiessling, 1993). En effet, ces mitochondries ont un faible taux de β -oxydation des acides gras essentiels (18:2 n-6 et 18:3 n-3) comparativement à celui des non-essentiels. L'utilisation d'une plus grande proportion de lipides au froid pourrait s'expliquer entre autre par le fait qu'il y a une augmentation des réserves intracellulaires de lipides dans la musculature. Ceci fournit une source d'énergie disponible rapidement, et une grande quantité d'énergie est obtenue lors de l'oxydation des lipides.

En plus des effets de la température sur le taux d'oxydation des substrats, cette dernière pourrait modifier leur taux d'oxydation relatif. En effet, les mitochondries isolées du foie du touladi (*Salvelinus namaycush*) oxydent très bien les acides gras et les acyls carnitines de différentes longueurs de chaîne ainsi que les glucides. Toutefois, il y a une oxydation d'acétoacétate et de β -hydroxybutyrate à basse température, ce qui indique que le foie pourrait utiliser les corps cétoniques (Ballantyne *et al.*, 1989). Par contre, la température ne semble pas modifier la préférence des mitochondries pour l'oxydation d'une longueur de chaîne d'acides gras donnée (Ballantyne *et al.*, 1989; Guderley *et al.*, sous presse).

2.1.5 Réorganisation membranaire

Pour beaucoup d'espèces et à tous les niveaux d'organisation, une acclimatation au froid est invariablement reliée à une augmentation du degré d'insaturation et à une élongation des acides gras des phospholipides, même si ces derniers diffèrent selon l'espèce et le tissu (Hazel et Prosser, 1974). Les réactions de déacylation/réacylation, d'élongation et de désaturation s'effectueraient rapidement face à une exposition au froid, d'après ce qui a été

démonstré pour les membranes plasmiques des hépatocytes de la truite arc-en-ciel (Williams et Hazel, 1995). Le cholestérol est souvent associé à une gélification des membranes. Ainsi, afin d'avoir une plus grande fluidité, on peut moduler le niveau de cholestérol à la baisse et/ou augmenter le degré d'insaturation des acides gras des phospholipides. De plus, il semble que le processus de fluidisation membranaire soit facilité lorsqu'on permet au pH de covarier avec la température (Hazel *et al.*, 1992). Soulignons que l'alimentation peut aussi modifier la composition des lipides membranaires (Geiser, 1990). Par contre, la composition en acides gras de la musculature ne reflète pas toujours fidèlement la composition de la diète (Kiessling *et al.*, 1989). Bref, le fait d'avoir un indice d'insaturation plus grand à basse température permettrait de conserver des plus grandes fluidités et une perméabilité des membranes. Les enzymes situées dans la membrane interne des mitochondries, comme la CCO, peuvent avoir une activité modifiée selon la fluidité locale (Hazel, 1972; Wodtke, 1981b). Une plus grande fluidité au froid permettrait de conserver un bon taux d'activité catalytique en allouant une plus grande liberté de mouvement à l'intérieur de la membrane. Ceci pourrait en quelque sorte compenser l'effet du froid sur l'activité catalytique de ces enzymes.

L'environnement physique dans lequel se trouve les membranes peut influencer leur fluidité, et ce même jusqu'à entraîner une compensation inverse (augmentation de la rigidité des membranes au froid). Effectivement, la composition chimique du milieu de resuspension des membranes plasmiques isolées du foie de la truite arc-en-ciel peut influencer les propriétés physiques des lipides membranaires, et donc la fluidité des membranes (Hazel *et al.*, 1992). L'étude de Crockett et Hazel (1995), a montré une hausse du niveau de cholestérol dans le domaine de la bordure en brosse de l'épithélium intestinal de la truite arc-en-ciel suite à l'acclimatation au froid. Ce comportement inattendu pourrait être dû à l'environnement plus instable dans cette région. En effet, la bile, un constituant majeur du micro-environnement du domaine de la bordure en brosse de l'épithélium intestinal, pourrait avoir un effet perturbateur sur les membranes, et la présence de cholestérol pourrait protéger contre cet effet. Le rôle du cholestérol est complexe et peut être inverse selon les conditions.

Il semble que les organismes vivant à des températures différentes aient une composition en lipides membranaires qui leur permettrait des degrés de fluidité similaire à leur température d'habitat respectif (Hazel et Williams, 1990). Le graphique d'Arrhenius est beaucoup utilisé pour étudier les réponses thermiques des systèmes biochimiques. Il a en ordonnée le taux maximal du processus étudié et en abscisse la réciproque de la température absolue. La pente de ce graphique permet d'obtenir l'énergie d'activation du phénomène se trouvant en ordonnée. La température à laquelle la pente change drastiquement s'appelle la température de transition. Chez les poissons, la conservation d'une fluidité membranaire similaire à différentes températures d'habitat peut être un mécanisme central dans la compensation thermique des capacités oxydatives maximales, même s'il n'y a pas de corrélation directe entre la température à laquelle la fluidité membranaire change et la température de transition de la phosphorylation oxydative. En effet, le graphique d'Arrhénius pour le stade 3 de la respiration mitochondriale chez le poisson rouge montre une coupure qui ne correspondrait pas avec celle des lipides membranaires (Van den Thillart et Modderkolk, 1978). Les phospholipides mitochondriaux de cette espèce montrent qu'une acclimatation au froid a un impact moindre sur le degré d'insaturation des acides gras comparativement à la longueur de chaîne moyenne (Van den Thillart et De Bruin, 1981). Cette étude a également montré qu'à basse température le caractère anionique des phospholipides était augmentée. Ceci aurait une importance dans la stabilisation du potentiel de surface des membranes mitochondriales, car ce dernier montre une corrélation positive avec la température.

La température de transition de la respiration mitochondriale des espèces vivant dans les événements thermiques: *Alvinella pompejana*, *Alvinella caudata*, *Riftia pachyptila*, *Bythograea thermydron*, *Bathymodiolus thermophilus* et *Calyptogena magnifica* ainsi que celle des espèces vivant en eau peu profonde: *Calyptogena elongata*, *Mytilus galloprovincialis*, *Soleyma ridi* et *Cancer antennarius* montrent une corrélation avec la température maximale de l'habitat (Dahloff *et al.*, 1991). Pour sa part, l'énergie d'activation montre une corrélation avec la température maximale de l'habitat, mais moins que la température de transition. Notons que des comparaisons de systèmes d'enzymes homologues provenant d'organismes ayant des températures corporelles différentes montrent que l'énergie d'activation est plus petite pour les

espèces ayant une température corporelle faible (Hochachka et Somero, 1984). La corrélation entre la température maximale de l'habitat et la température de transition pour deux enzymes de la membrane interne mitochondriale, soit la CCO et la succinate déshydrogénase (SDH), est similaire à celle obtenue pour la respiration mitochondriale (Dahloff *et al.*, 1991). Il semble que ce soit la perturbation des interactions hydrophobes entre les protéines membranaires et les lipides associés ou entre les protéines membranaires comme telles qui est responsable de la perte des fonctions mitochondriales à haute température (O'Brien *et al.*, 1991). Mentionnons qu'on ne note pas un changement de fluidité membranaire significatif aux températures où le taux de respiration mitochondriale diminue. Par contre, l'énergie d'activation de la respiration mitochondriale de *Myoxocephalus scorpius*, *N. coriiceps*, *Oreochromis andersoni*, *Oreochromis niloticus*, *O. mykiss*, *O.a. grahami*, *C. carpio*, *Isurus oxyrinchus* et celle de l'organe thermogène de *Xiphias gladius* ne montre pas une corrélation avec la température d'habitat (Guderley et St-Pierre, 1996). Les mitochondries isolées de la musculature des truites arc-en-ciel acclimatées à des températures plus froides ont une énergie d'activation plus élevée que les mitochondries isolées de la musculature des truites arc-en-ciel à l'été (Guderley et St-Pierre, 1996). Ceci est contraire à ce qui a été obtenu par Dahloff *et al.* (1991), probablement à cause d'une approche expérimentale différente. Cependant, ceci suggère que l'énergie d'activation peut changer à l'intérieur d'une espèce selon l'acclimatation thermique.

2.2 Modifications des propriétés contractiles du muscle face à une exposition au froid

On observe souvent une compensation des capacités locomotrices au niveau de l'organisme entier chez différentes espèces de poisson faisant face au froid de façon chronique ou saisonnière. Cette compensation peut s'expliquer par des modifications du système musculaire aux niveaux physiologique et moléculaire ainsi que par des différences au niveau du système cardio-respiratoire.

2.2.1 Compensation thermique des capacités locomotrices au niveau de l'organisme entier

La vitesse critique de nage fournit une estimation de la capacité de nage soutenue. La vitesse critique de nage est souvent déterminée en soumettant un poisson à des courants de plus en plus forts, ce qui le force à augmenter sa vitesse de nage. La plus grande vitesse de nage atteinte avant que le poisson ne se fatigue est considérée comme la vitesse critique de nage. Chez le poisson rouge, l'acclimatation au froid augmente la vitesse maximale qui peut être soutenue à basse température, alors qu'à haute température la performance est réduite (Fry et Hart, 1948). De la même façon, l'acclimatation au froid chez la carpe commune augmente la vitesse critique de nage à basse température. La truite arc-en-ciel et le saumon nerka (*Oncorhynchus nerka*) montrent le plus grand exercice aérobie soutenu à la température d'acclimatation intermédiaire (Taylor *et al.*, 1996; Brett, 1964).

Les effets de la température sur la nage à vitesse de pointe sont variables entre les différentes espèces étudiées. En effet, il y a une augmentation de la vitesse de nage de pointe à basse température chez la carpe, le poisson rouge et le choquemort (*Fundulus heteroclitus*) lors d'une acclimatation au froid (Johnston *et al.*, 1990; Johnson et Bennett, 1995). Chez la truite arc-en-ciel, on retrouve une compensation de la performance de nage à vitesse de pointe lors de l'acclimatation au chaud. En effet, la truite acclimatée à 20°C parcourt une plus grande distance en 40 ms et a une plus grande vitesse angulaire à 20°C que le poisson acclimaté à 5°C, alors qu'il n'y a aucune différence significative entre les différents paramètres cinétiques des truites acclimatées à 5°C et ceux des truites acclimatées à 20°C, lorsque mesurés à 5°C (Johnson *et al.*, 1996). De façon similaire, le crapaud de mer (*M. scorpius*) acclimaté à 15°C possède une vitesse maximale de nage plus rapide à 15°C qu'à 5°C (Beddow *et al.*, 1995). Cependant, la performance de nage à vitesse de pointe est augmentée à basse température lors de l'acclimatation au froid chez cette espèce (Johnston et Franklin, résultats non publiés).

2.2.2 Mécanismes physiologiques permettant la compensation thermique

Plusieurs mécanismes physiologiques pourraient expliquer la constance relative de la performance locomotrice des poissons malgré les variations saisonnières de la température.

Premièrement, les caractéristiques de la myosine ATPase pourraient être modifiées avec la température environnementale afin de compenser l'effet de la température sur le taux de réaction. Deuxièmement, les propriétés contractiles des fibres comme la vitesse maximale de contraction, la force maximale développée en contraction isométrique, la puissance, le travail ainsi que la courbure de la relation force-vitesse pourraient changer en fonction de la température. Troisièmement, le nombre d'unités contractiles actives par cellule musculaire (la fraction volumique myofibrillaire) pourrait être ajusté afin de compenser les effets de la température sur la force et le développement de la puissance. Finalement, le patron de recrutement des fibres ou le nombre d'unités motrices activées à une vitesse de nage donnée pourrait varier avec la température.

2.2.2.1 Myosine ATPase

Lors de l'acclimatation au froid, l'activité et la thermosensibilité de la myosine ATPase sont modifiées en général chez poissons eurythermes, mais non chez les poissons sténothermes. En effet, les réponses obtenues chez les poissons eurythermes sont variables. L'activité de la myosine ATPase du muscle blanc est plus élevée chez la carpe commune, la tanche, le gardon et le poisson rouge acclimatés au froid que chez les mêmes poissons acclimatés au chaud (Heap *et al.*, 1985; Penney et Goldspink, 1981), et la myosine ATPase des poissons rouges acclimatés au chaud a une plus petite sensibilité thermique que celle des poissons acclimatés au froid (Penney et Goldspink, 1981). Par contre, on note une absence de compensation thermique de l'activité de la myosine ATPase des muscles rouge et blanc chez le brochet maillé (*Esox niger*) (Sidell et Johnston, 1985) et le bar rayé (Moerland et Sidell, 1986) ainsi que du muscle blanc chez le choquemort (Sidell *et al.*, 1983), trois espèces de poissons eurythermes. Mentionons que l'activité de la myosine ATPase du muscle blanc du choquemort augmente lors de l'acclimatation au froid si la différence entre les deux températures d'acclimatation est plus grande que 20°C (Johnson et Bennett, 1995). Les espèces sténothermes comme l'anguille (*Anguilla anguilla*), l'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*), le crapaud de mer et la truite arc-en-ciel ne montrent pas de compensation pour l'activité de la myosine ATPase du muscle blanc, et cette dernière chez les truites arc-en-ciel acclimatées au froid n'est pas plus

thermosensible que celle des truites acclimatées au chaud (Heap *et al.*, 1985; Penney et Goldspink, 1981; Ball et Johnston, 1996; Johnson *et al.*, 1996). Lorsqu'on effectue des comparaisons interspécifiques, on note que les poissons Antarctiques possèdent des plus grandes activité et thermosensibilité de la myosine ATPase que les poissons tropicaux (Goldspink, 1995). Néanmoins, il semble que la corrélation entre l'activité de la myosine ATPase et la vitesse de contraction du muscle ne peut être extrapolée pour prédire les effets de la température sur la fonction contractile du muscle à l'intérieur d'une espèce (Sidell et Johnston, 1985).

2.2.2.2 Propriétés contractiles des fibres

Lorsqu'un muscle se contracte isotoniquement contre une charge, on observe une relation curviligne entre la charge (tension) et la vitesse (Withers, 1992). Le P_0 représente la force maximale développée par une contraction isométrique alors que le V_{MAX} représente la vitesse maximale de contraction du muscle lorsque la charge est nulle. La puissance du muscle se calcule en multipliant la force par la vitesse. Les propriétés contractiles du muscle de la carpe commune, du crapaud de mer, du poisson rouge, du choquemort et de la truite arc-en-ciel sont modifiées par l'acclimatation thermique (Johnston *et al.*, 1985; Langfeld *et al.*, 1991; Beddow et Johnston, 1995; Johnson et Bennett, 1995; Johnson *et al.*, 1996). Chez la carpe commune, la puissance maximale des fibres lentes intactes à 8°C est plus élevée pour les carpes acclimatées au froid comparativement à celles acclimatées au chaud (Langfeld *et al.*, 1991). Les fibres blanches dénudées chimiquement des carpes communes acclimatées au froid démontrent des P_0 et V_{MAX} plus élevées que celles des carpes communes acclimatées au chaud, lorsque mesurés à basse température (Johnston *et al.*, 1985). De plus, les fibres blanches dénudées chimiquement des carpes communes acclimatées au froid ne se relâchent pas complètement à la température d'acclimatation élevée (Johnston *et al.*, 1985). Ces résultats démontrent que les propriétés intrinsèques des protéines contractiles sont modifiées lors de l'acclimatation au froid. En ce qui concerne le crapaud de mer, la puissance relative des fibres blanches intactes est 40% plus élevée à 5°C pour les poissons acclimatés à 5°C comparativement à ceux acclimatés à 15°C, alors qu'à 15°C la puissance relative est six fois plus élevée pour les poissons acclimatés à 15°C comparativement à ceux acclimatés à 5°C (Beddow et Johnston, 1995). On observe chez le

crapaud de mer des changements de courbure dans la relation entre la charge et la vitesse pour les poissons acclimatés au froid. Ce phénomène serait responsable de l'augmentation de 40% de la puissance relative du muscle blanc à 5°C pour les poissons acclimatés au froid (Beddow et Johnston, 1995). Les fibres blanches intactes des crapauds de mer acclimatés au froid démontrent un échec partiel dans le couplage excitation-contraction à haute température (Beddow et Johnston, 1995), alors qu'on n'observe pas ce phénomène pour les fibres blanches dénudées chimiquement (Ball et Johnston, 1996). Ainsi, chez le crapaud de mer, ce seraient des effets de la température au niveau présynaptique de la jonction neuro-musculaire qui expliqueraient l'échec partiel du couplage excitation-contraction. Néanmoins, les fibres blanches intactes ainsi que celles dénudées chimiquement, des crapauds de mer acclimatés au chaud possèdent des V_{MAX} plus élevées comparativement à celles des poissons acclimatés au froid, lorsque mesurés à une température élevée (Beddow et Johnston, 1995; Ball et Johnston, 1996). En ce qui concerne le poisson rouge, le choquemort et la truite arc-en-ciel, le temps de contraction de leurs fibres blanches, mesuré à une température froide, diminue lors de l'acclimatation à basse température (Johnson et Bennett, 1995; Johnson *et al.*, 1996). Il est important de noter que l'ampleur des réponses est beaucoup plus petite pour le choquemort (30%) et la truite arc-en-ciel (11%) que pour le poisson rouge (100%; Johnson et Bennett, 1995; Johnson *et al.*, 1996). Lorsqu'on regarde les propriétés contractiles musculaires des poissons Antarctiques vivant dans un milieu constamment froid, on note que la puissance mécanique à 0°C est comparable à celle mesurée à 15-25°C pour des espèces de poisson vivant dans les zones tempérées (Johnston et Harrison, 1985). Finalement, mentionnons que les modifications des propriétés contractiles chez le poisson doré, la carpe commune, le choquemort ainsi que chez les poissons Antarctiques s'effectuent en parallèle à la compensation thermique de l'activité de la myosine ATPase chez ces espèces.

Les propriétés contractiles des muscles de la plie (*Platichthys flesus*), du brochet maillé et du bar rayé ne sont pas affectées par l'acclimatation thermique (Johnston et Wokoma, 1986; Sidell et Johnston, 1985; Moerland et Sidell, 1986). Chez la plie, les fibres blanches dénudées chimiquement se relâchent complètement jusqu'à une température de 25°C, et la relation entre

la charge et la vitesse devient moins courbée lorsque la température diminue (Johnston et Wokoma, 1986). Cette dernière observation permet que la dépendance thermique de la vitesse de contraction soit moindre pour des charges à puissance optimale qu'à zéro de charge. On observe chez le brochet maillé que le P_0 et le V_{MAX} des fibres blanches dénudées chimiquement ont un faible Q_{10} (Sidell et Johnston, 1985). La puissance développée par le muscle chez cette espèce devrait donc être relativement indépendante de la température. En ce qui concerne le bar rayé, les acclimations au chaud et au froid n'ont pas d'effet sur le P_0 et le V_{MAX} des fibres blanches et rouges dénudées chimiquement (Moerland et Sidell, 1986). Ainsi, il semble que les protéines contractiles de ces trois espèces de poissons aient des propriétés contractiles représentant un compromis entre celles qui seraient optimales pour les extrêmes thermiques rencontrés. En effet, on ne remarque pas une compensation thermique de l'activité de la myosine ATPase chez le brochet maillé (Sidell et Johnston, 1985) et le bar rayé (Moerland et Sidell, 1986) lors d'une acclimation au froid, comme cité précédemment. Chez ces espèces, des modifications de la proportion des fibres rouges et du recrutement des fibres lors de l'acclimation au froid pourraient jouer un rôle critique pour conserver une capacité de nage soutenue à basse température (voir section sur le recrutement des fibres).

2.2.2.3 Fraction volumique myofibrillaire

La fraction volumique myofibrillaire ne semble pas une caractéristique musculaire altérée de façon très significative avec l'acclimation/acclimatisation thermique. En effet, la fraction volumique myofibrillaire du gardon ne change pas avec les saisons (Sänger *et al.*, 1990), alors que celles du bar rayé et de la carpe commune augmentent légèrement lors d'une acclimation au chaud (Egginton et Sidell, 1989; Johnston et Maitland, 1980). Les myofibrilles occupent déjà une grande fraction volumique de la cellule musculaire et une hausse significative de cette dernière pourrait entraîner des limitations mécaniques et fonctionnelles.

2.2.2.4 Recrutement des fibres musculaires

La puissance mécanique maximale que le muscle peut générer diminue avec la température. Afin de contrer ceci, la carpe recrute plus de fibres rapides pour atteindre une vitesse donnée à basse température qu'à haute température (Rome *et al.*, 1984). La carpe est

donc obligée d'avoir une vitesse de nage soutenue plus faible au froid, car l'utilisation du muscle glycolytique mène rapidement à la fatigue. Par contre, l'acclimatation au froid chez la carpe augmente la vitesse initiale à laquelle le muscle glycolytique est recruté, lorsque mesurée à basse température (Rome *et al.*, 1985). Ceci reflète une hausse de la quantité des fibres aérobies (Sidell, 1980), un accroissement de la quantité de mitochondries dans la musculature (Tyler et Sidell, 1984) et des modifications des propriétés contractiles (Johnston *et al.*, 1985). Cette altération du patron de recrutement des fibres avec la température et la hausse de la proportion des fibres rouges dans la musculature de nage au froid (Jones et Sidell, 1982; Sidell, 1980; Johnston et Lucking, 1978) peuvent être des mécanismes très importants pour conserver une capacité de nage soutenue au cours des saisons chez plusieurs espèces, particulièrement chez celles qui ne démontrent pas une compensation thermique de l'activité de la myosine ATPase et des propriétés contractiles.

2.2.3 Mécanismes moléculaires permettant la compensation thermique

Les isoformes des protéines contractiles peuvent présenter des différences de séquence d'acides aminés et de caractéristiques fonctionnelles. La myosine est composée de deux chaînes lourdes (MHC) et de quatre chaînes légères (LC). Les chaînes lourdes sont enroulées l'une sur l'autre dans leur région C-terminale et se séparent en têtes globulaires S1 dans leur région N-terminale. La tête S1 est le site de liaison à l'actine et possède l'activité ATPasique. L'activité ATPasique et la vitesse de raccourcissement du muscle sont en grande partie déterminées par les chaînes lourdes, mais aussi par les chaînes légères (pour un article de revue voir Johnston, 1993).

On observe souvent une augmentation de l'activité de la myosine ATPase lors d'une acclimatation au froid (voir section précédente). La durée et l'absence de réponses à l'acclimatation chez les poissons à jeun sont consistantes avec l'implication de la synthèse protéique dans ce phénomène (Heap *et al.*, 1986). En effet, l'acclimatation à basse température induit une hausse du taux de synthèse protéique chez la carpe, mais non chez la truite arc-en-ciel (Loughna et Goldspink, 1985). Ceci est consistant avec les résultats obtenus sur la

compensation au froid de l'activité de la myosine ATPase chez ces espèces (Heap *et al.*, 1985; Penney et Goldspink, 1981; Johnson *et al.*, 1996).

Sachant que ce sont les têtes des chaînes lourdes de la myosine qui possèdent l'activité ATPasique et que la compensation thermique de l'activité de cette enzyme requiert une synthèse protéique, des isoformes particulières des chaînes lourdes de la myosine pourraient être présentes chez les espèces de poissons montrant une compensation au froid de l'activité de la myosine ATPase. En effet, Gerlach et collaborateurs (1990) ont trouvé qu'il existait au moins vingt-huit gènes pour les chaînes lourdes de la myosine chez la carpe commune. De plus, les carpes communes acclimatées à 28°C possédaient des ARNm qui s'hybridaient plus fortement avec une sonde spécifique des chaînes lourdes de la myosine de muscle rapide que les poissons acclimatés à 18°C. Ceci indique un changement dans l'expression des chaînes lourdes de la myosine avec la température. Aussi, les carpes communes acclimatées à 10°C possèdent deux isoformes de chaînes lourdes S1 (H1 et H2) qui diffèrent de celles présentes chez les carpes communes acclimatées à 30°C (H3; Watabe *et al.*, 1994). Le poisson rouge modifie également son patron d'expression des isoformes des chaînes lourdes de la myosine ATPase avec la température (Johnson et Bennett, 1995). Par contre, on n'observe pas une modification du patron d'expression des isoformes des chaînes lourdes de la myosine chez le crapaud de mer (Ball et Johnston, 1996), la truite arc-en-ciel, (Johnson *et al.*, 1996) et le choquemort (Johnson et Bennett, 1995). En effet, le crapaud de mer et la truite arc-en-ciel ne montrent pas de compensation thermique de l'activité de la myosine ATPase. L'augmentation de l'activité ATPasique chez les choquemorts acclimatés au froid s'expliquerait par un mécanisme autre que la modification de l'expression des isoformes de la myosine ATPase (Johnson et Bennett, 1995).

Les chaînes légères de la myosine peuvent jouer un rôle déterminant dans les propriétés contractiles du muscle. En effet, le muscle blanc du poisson tropical *O. andersonii* possède deux allèles pour les chaînes légères de la myosine, soit LC1_n et LC1_d. La vitesse maximale de contraction des fibres musculaires contenant LC1_d est plus grande que celles contenant LC1_n (Crockford *et al.*, 1995). Afin de voir si la température pouvait amener une expression

différente des isoformes des chaînes légères de la myosine, Langfeld et collaborateurs (1991) ont purifié de la myosine à partir de faisceaux de fibres rouges de la carpe commune. Les faisceaux de fibres des poissons acclimatés au chaud possèdent presque exclusivement des chaînes légères de myosine lente (LC1, et LC2_s), alors que ceux acclimatés au froid possèdent des chaînes légères de la myosine rapide (LC1_f et LC2_f), en plus de LC1, et LC2. Ainsi, l'acclimatation au froid chez la carpe commune amène le muscle rouge à exprimer des chaînes légères de la myosine qui sont normalement associées à des fibres qui se contractent rapidement (Langfeld *et al.*, 1991). Le crapaud de mer est une espèce particulière, car l'acclimatation au froid affecte certaines propriétés contractiles, dont la vitesse de contraction maximale, mais n'entraîne pas une compensation au niveau de l'activité de la myosine ATPase, ni un changement dans l'expression des isoformes des chaînes lourdes de la myosine (Beddow et Johnston, 1995; Ball et Johnston, 1996). Chez cette espèce, ce serait le changement du rapport entre les deux chaînes légères de la myosine (LC3_f:LC1_f) avec la température d'acclimatation qui expliquerait les changements de vitesse maximale (Ball et Johnston, 1996).

3. Facteurs non-thermiques entraînant des modifications métaboliques du muscle

Plusieurs autres facteurs que la température peuvent entraîner des changements dans les capacités métaboliques du muscle des poissons, soit la concentration d'oxygène dans le milieu, la disponibilité de nourriture et l'entraînement.

3.1 Concentration d'oxygène

À l'intérieur d'une espèce, on peut obtenir pour une même température une fraction volumique mitochondriale plus élevée chez les animaux acclimatés à l'hypoxie comparativement à ceux acclimatés en normoxie (Sänger *et al.*, 1990). L'hypoxie, chez la truite arc-en-ciel, amène cette dernière à choisir un environnement plus froid. Ce choix pourrait s'expliquer par une diminution du métabolisme au froid et une augmentation de l'affinité de l'haémoglobine pour l'oxygène à basse température (Shurmann *et al.*, 1991).

3.2 Entraînement

L'entraînement est un déterminant des capacités métaboliques musculaires d'importance plus grande chez les homéothermes que chez les ectothermes, dû au fait que les homéothermes ont une plus grande indépendance face à leur milieu. En effet, la température centrale du corps chez les homéothermes demeure assez constante indépendamment des conditions du milieu.

3.2.1 Endothermes

Chez les mammifères, le muscle est capable de faire une plus grande quantité de travail aérobie après un entraînement en endurance, à cause d'une augmentation de la fraction volumique mitochondriale. Cette augmentation de la fraction volumique mitochondriale amène par le fait même une augmentation de l'activité (U/g tissu frais) des enzymes contenues dans la matrice et dans les membranes des mitochondries. L'entraînement en endurance favorise aussi l'utilisation des lipides comme carburant, évitant ainsi d'épuiser les réserves de glycogène qui nous amèneraient rapidement à la fatigue (Hollozy et Coyle, 1984).

3.2.2 Ectothermes

Chez les ectothermes, les réponses à l'entraînement sont très variables entre les espèces de cyprinidés et de salmonidés étudiées jusqu'à ce jour. Les raisons pouvant expliquer cette variabilité sont l'utilisation de protocoles d'entraînement différents selon les études et les patrons de nage différents parmi les espèces étudiées. De plus, les réponses diffèrent parfois de ce qu'on observe chez les endothermes.

En ce qui concerne les cyprinidés, l'entraînement en endurance amène chez *L. cephalus* (meunier) une augmentation des fractions volumiques mitochondriale et lipidique dans le muscle rouge, mais non dans les muscles rose et blanc (Sänger, 1992). Aussi, chez cette même espèce ainsi que chez *Chondrostoma nasus*, il y a un accroissement des masses musculaires rouge et rose, du diamètre des fibres et de la capillarisation lors d'un entraînement en endurance (Sänger, 1992). Par contre, on ne note pas une hausse des fractions volumiques mitochondriale et lipidique dans les muscles rouge et rose lors de l'entraînement en endurance chez *C. nasus* (Sänger, 1992). Une des raisons pouvant expliquer ces résultats est l'utilisation

de différents mode de nage pour ces deux espèces dans leur habitat naturel: *C. nasus* utilise principalement la nage à vitesse soutenue, alors que *L. cephalus* emploie surtout la nage à vitesse de pointe (Sänger, 1992). Ces différences dans les modes de nage entre les deux espèces se reflétaient au niveau de l'ultrastructure de leurs fibres musculaires rouges. En effet, *C. nasus* montrait des plus grandes fractions volumiques mitochondriale et lipidique que *L. cephalus* avant la période d'entraînement en endurance (Sänger, 1992).

En ce qui concerne les effets d'un entraînement en endurance sur la musculature des salmonidés, on observe tout d'abord chez la truite brune (*Salmo trutta*) une augmentation du nombre et de la taille des fibres rouges ainsi qu'un accroissement de la taille des mitochondries dans ce tissu (Davison et Goldspink, 1977). Aussi, chez cette espèce, l'entraînement en endurance à une faible vitesse de nage (1 longueur de corps/seconde) amène une hausse de la quantité de lipides dans le muscle rouge, alors que l'entraînement à une vitesse intermédiaire (3 longueurs de corps/seconde) conduit à une diminution de la quantité de lipides (Davison et Goldspink, 1977). Ainsi, les lipides semblent un carburant important à une vitesse intermédiaire d'entraînement. Chez l'omble de fontaine, on observe lors d'un entraînement en endurance (3 longueurs de corps/seconde) une diminution de l'activité des enzymes glycolytiques du muscle blanc, mais une hausse dans le muscle rouge, une hypertrophie du muscle rouge et une augmentation de l'utilisation des lipides (Johnston et Moon, 1980). L'augmentation du catabolisme des lipides lors de l'entraînement est bien démontrée par l'accroissement de l'activité de la 3-OH acyl CoA déshydrogénase dans les muscles blanc et rouge des ombles de fontaine entraînés (Johnston et Moon, 1980). Par contre, l'activité des enzymes aérobies du muscle rouge et la fraction volumique mitochondriale des fibres rouges chez cette espèce n'ont pas changé en réponse au programme d'entraînement (Johnston et Moon, 1980). Ainsi, l'augmentation de la demande en énergie causée par l'entraînement pourrait être comblée de façon anaérobie par le muscle rouge et par une capacité aérobie relativement élevée pour le muscle blanc. Par contre, les effets d'un entraînement en endurance (1 longueur de corps/seconde) sur la musculature de la truite arc-en-ciel consistent en une augmentation de la masse du muscle rouge et une augmentation du nombre de capillaires par fibre rouge (hausse de 27%) et par fibre blanche (hausse de 95%; Davie *et al.*, 1986). Ceci indique donc une plus

grande capacité aérobie des muscles rouge et blanc lors d'un entraînement en endurance. En effet, la truite arc-en-ciel lors d'un entraînement en endurance effectue une transition dans l'expression des isozymes de la lactate déshydrogénase du muscle blanc. Ainsi, on retrouve les isozymes de la LDH-B, principalement la LDH-B', au lieu de la LDH-A après un et plusieurs mois de nage soutenue (Davie *et al.*, 1986). La présence de l'isozyme LDH-B' pourrait diriger plus de pyruvate vers le cycle de Krebs. Ceci serait très utile dans un muscle blanc qui a augmenté sa capacité aérobie, comme dans le cas d'un entraînement en endurance. De plus, si l'augmentation de la capacité aérobie du muscle blanc s'explique par une augmentation de la fraction volumique mitochondriale, ceci permettrait de diminuer les gradients spatiaux-temporels de phosphocréatine et de diminuer les changements spatiaux-temporels d'énergie libre de l'hydrolyse de l'ATP (Hubley *et al.*, 1997). L'apparition de la fatigue serait donc repoussée. Finalement, la variabilité des réponses obtenues chez les salmonidés pourrait en partie s'expliquer par des différences dans les protocoles expérimentaux (durée et vitesse d'entraînement variables).

3.3 Disponibilité de la nourriture

La disponibilité de la nourriture peut varier énormément dans un habitat naturel au cours d'un cycle annuel, obligeant ainsi les poissons à s'y conformer. Les réorganisations métaboliques dans le système musculaire sont très importantes en période de jeûne afin de pouvoir conserver une capacité locomotrice adéquate; d'autant plus que lors d'un jeûne, la concentration protéique diminue dans le système musculaire, car les protéines sont catabolisées. Les protéines sarcoplasmiques semblent être utilisées préférentiellement alors que les protéines myofibrillaires semblent être retenues (Guderley *et al.*, 1996). De plus, il y a une mobilisation assez précise des protéines lors du jeûne chez l'esturgeon blanc (*Acipenser transmontanus*), de sorte que les protéines des régions plus dorsales du muscle blanc épaxial et du muscle rose sont utilisées préférentiellement (Kiessling *et al.*, 1993). Ceci semble préserver les protéines du muscle rouge et du muscle blanc près de la ligne latérale. Bref, l'utilisation des protéines en période de jeûne est plus grande dans les fibres du dos, ensuite dans les fibres plus latérales et finalement dans les fibres situées le long de la ligne latérale. Il y a également une diminution plus rapide du taux de synthèse protéique dans le muscle blanc que dans le muscle rouge lors

du jeûne chez la truite arc-en-ciel (Loughna et Goldspink, 1984). Ensemble, ces résultats laissent suggérer que le sentier de la glycolyse anaérobie serait principalement affecté par la disponibilité de nourriture. En effet, il y a corrélation positive entre l'activité des enzymes de la voie glycolytique (phosphofructokinase (PFK), pyruvate kinase (PK) et lactate déshydrogénase (LDH) et le taux de croissance dans le muscle blanc de la morue de l'Atlantique (*Gadus morhua*, Pelletier *et al.*, 1993a; Pelletier *et al.*, 1994) et dans celui du goberge (*Pollachius virens*; Mathers *et al.*, 1992). On observe aussi une hausse du contenu en LDH dans le muscle blanc de *Anoplopoma fimbria* et dans celui de *G. morhua* avec une augmentation de la disponibilité de la nourriture (Sullivan et Somero, 1983; Guderley *et al.*, 1996).

Quelques études ont regardé si les enzymes de la voie aérobie étaient elles aussi affectées par la disponibilité de nourriture. Pour ce qui est du système musculaire, on observe une faible corrélation positive entre l'activité des enzymes mitochondriales et le taux de croissance dans le muscle de la morue de l'Atlantique (Pelletier *et al.*, 1993b) et dans celui de l'achigan à grande bouche (*Micropterus salmoides*; Goolish et Adelman, 1987). Chez la morue de l'Atlantique, l'activité des enzymes mitochondriales semble plus affectée par la grosseur, la condition physique et la saison (Pelletier *et al.*, 1993b). Aussi, Cai et Adelman (1990) n'ont trouvé aucune relation entre l'activité de la CCO dans le muscle blanc et le taux de croissance chez la carpe commune. De plus, la quantité de nourriture disponible n'affecte pas l'activité des enzymes mitochondriales chez la truite arc-en-ciel (Kiessling *et al.*, 1989; Kiessling *et al.*, 1991). Par contre, on observe une forte corrélation positive entre le taux de croissance et l'activité de la CS ainsi que celle de la CCO dans le muscle blanc du goberge (Mathers *et al.*, 1992).

En bref, la disponibilité de nourriture et le taux de croissance semblent affecter de façon plus importante les enzymes de la glycolyse anaérobie que celles de la glycolyse aérobie dans le muscle. Ainsi, les capacités oxydatives du muscle ne seraient pas limitantes pour la croissance. Tout ceci n'exclut pas la possibilité de diverses corrélations entre le taux de croissance et l'activité des enzymes aérobie dans d'autres tissus. En effet, on retrouve une corrélation négative entre le taux de croissance et l'activité des enzymes aérobie dans le foie de l'achigan à

grande bouche ainsi que dans le coeur et dans le foie de la carpe commune. Par contre, on observe une corrélation positive entre le taux de croissance et l'activité des enzymes aérobies dans l'intestin de la morue de l'Atlantique (Pelletier *et al.*, 1994) et dans le système gastro-intestinal de l'achigan à grande bouche (Goolish et Adelman, 1987). Chez la morue de l'Atlantique, l'activité de la CCO dans l'intestin augmente en parallèle avec l'efficacité de la conversion de la nourriture. Ainsi, la capacité aérobie de l'intestin pourrait limiter la croissance chez ces espèces.

Deux études sur la truite arc-en-ciel supposent des conclusions contradictoires

On sait que, lors d'une acclimatation/acclimatisation au froid, il y a normalement une augmentation du métabolisme des lipides dans la musculature de nage des poissons. Chez des truites arc-en-ciel acclimatées en conditions semi-naturelles de température et de photopériode, la capacité d'oxydation relative des lipides par le muscle rouge est plus grande en automne qu'en été, même si l'activité absolue de la majorité des enzymes à la température de l'habitat est plus élevée à l'été qu'à l'automne (Thibault *et al.*, 1997). La musculature de la truite arc-en-ciel dans son cycle annuel ne montrerait pas de compensation thermique, étant donné que l'activité des enzymes glycolytiques et mitochondriales aux températures de l'habitat ne demeurent pas constantes. Il y a une augmentation de l'activité de la PFK, CCO, CPT (carnitine palmitoyltransférase), PDH (pyruvate déshydrogénase) et CS à l'été, et une diminution à l'automne (Thibault *et al.*, 1997). Cependant, il y a une réorganisation qualitative des mitochondries, car le rapport CS/CCO est plus haut en janvier qu'en juin et en août (Thibault *et al.*, 1997). Les mitochondries isolées du muscle rouge de truites arc-en-ciel acclimatées à l'automne ont des taux d'oxydation du pyruvate et du palmitoyl carnitine plus élevés que celles des truites d'été (Guderley *et al.*, sous presse). Une augmentation de la capacité oxydative du muscle rouge s'effectue souvent via un accroissement de la densité volumique mitochondriale et une élévation de l'activité des enzymes du métabolisme aérobie (voir section précédente). Il est donc difficile de concilier une augmentation des taux de consommation maximale d'oxygène par les mitochondries isolées du muscle rouge des truites d'automne avec une diminution de l'activité de la CS ainsi que de celle de la CCO à l'automne. Quelques hypothèses pourraient expliquer ces résultats. Lors de la transition de l'été à l'automne, il pourrait y avoir une

diminution de la fraction volumique mitochondriale, mais un accroissement de l'activité des enzymes aérobies par mitochondrie. Aussi, les mitochondries pourraient subir des modifications qualitatives importantes qui leur permettraient de maintenir une activité oxydative plus grande, sans que la capacité globale du muscle soit modifiée.

Projet de maîtrise

Mon projet de maîtrise visait à suivre les déterminants de la capacité oxydative du muscle rouge de la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*, lors de l'acclimatation à l'été et à l'hiver. Pour ce faire, nous avons comparé: (1) les taux d'oxydation du pyruvate et du palmitoyl carnitine par les mitochondries isolées, (2) les activités des enzymes glycolytique (PFK) et mitochondriales (CCO, CS, CPT) du muscle, (3) les activités des enzymes du métabolisme aérobie (CCO, CS, CPT) des mitochondries isolées et (4) l'ultrastructure des fibres et des mitochondries de truites arc-en-ciel acclimatées aux conditions hivernales, avec ces mêmes variables chez des truites acclimatées aux conditions estivales. Nous avons mesuré ces quatre variables sur chacun des poissons échantillonnés. Nous avons utilisé la truite arc-en-ciel comme modèle expérimental, car celle-ci fait face à de grandes variations de température au cours des saisons. Le poisson a ses fibres rouges ségréguées anatomiquement, contrairement aux mammifères qui montrent un mélange de ces fibres à l'intérieur du muscle. Ceci permet donc de pouvoir bien évaluer la compensation au froid de la capacité oxydative musculaire en isolant un muscle qui repose presque uniquement sur un métabolisme aérobie.

Hypothèses

- 1) Les capacités d'oxydation maximale des mitochondries individuelles montrent une compensation lors des saisons froides. Ainsi, on s'attend à des capacités d'oxydation maximale des mitochondries individuelles plus élevées chez les truites d'hiver que chez celles d'été, pour une température d'essai donnée.
- 2) Il y a une corrélation positive entre la fraction volumique mitochondriale et l'activité des enzymes mitochondriales exprimée en U/g tissu frais pour une température d'essai donnée. Ainsi, on s'attend à une fraction volumique mitochondriale plus élevée chez les truites d'été comparativement à celles d'automne.

- 3) L'activité des enzymes mitochondriales exprimée en U/mg protéine mitochondriale ne varie pas entre les truites d'hiver et celles d'été, pour une température d'essai donnée.
- 4) La densité de surface des crêtes des mitochondries ne varie pas entre les truites d'hiver et celles d'été.
- 5) La fraction volumique lipidique est plus élevée chez les truites d'hiver que chez celles d'été.

Chapitre II

**Déterminants de la capacité oxydative du muscle rouge
de la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss***

Introduction

La température est un facteur abiotique très important pour la physiologie des poissons, étant donné leur respiration branchiale et l'équilibration thermique qu'elle cause. Au froid, les poissons peuvent demeurer actifs ou entrer en dormance, adoptant la stratégie qui convient le mieux à leur physiologie et leur budget énergétique. Les espèces demeurant actives au froid doivent effectuer une réorganisation métabolique de leur musculature afin de conserver un taux de production aérobie d'énergie suffisant pour permettre la prise de nourriture, la fuite des prédateurs et les déplacements. Cette réorganisation métabolique musculaire peut être quantitative ou qualitative. Ainsi, afin d'augmenter la capacité aérobie musculaire au froid, on peut accroître la quantité de mitochondries dans les fibres musculaires et/ou modifier les propriétés intrinsèques des mitochondries.

Au cours de l'évolution, l'adaptation de la capacité aérobie pour la vie dans un environnement constamment froid semble avoir grandement misée sur des modifications quantitatives. Les poissons Antarctiques ont donc une capacité aérobie musculaire plus élevée que les poissons vivant dans les régions tempérées ou tropicales. En effet, les activités de la CCO et de la CS du muscle rouge des poissons Antarctiques sont plus élevées que celles des poissons des zones tempérées, lorsque mesurées à 1°C (Crockett et Sidell, 1990). La fraction volumique mitochondriale plus élevée chez les poissons Antarctiques que chez les poissons des zones tempérées (Johnston *et al.*, 1988) semble pouvoir expliquer ces différences d'activités enzymatiques. Par contre, la sensibilité thermique de la consommation d'oxygène des mitochondries semble s'être peu modifiée au cours de l'évolution. Ainsi, lorsqu'on regarde les taux de consommation maximale d'oxygène des mitochondries isolées provenant de poissons vivant à des températures différentes, on observe seulement une faible compensation pour les poissons Antarctiques. Les mitochondries de *Notothenia coriiceps*, un poisson Antarctique, oxydent le pyruvate à un taux de 15,5 nmoles O/mg protéine/min à -1,5°C, alors que celles de *Oreochromis alcalcus grahami*, une espèce de poisson des sources thermales, cesseraient d'oxyder le pyruvate à 0,4°C, mais possèdent une capacité d'environ 300 nmoles O/mg protéine/min à leur température d'habitat (40°C; Johnston *et al.*, 1994). Le taux de consommation d'oxygène des segments de fibres isolées des poissons Antarctiques est

supérieur à celui des poissons des zones tempérées, lorsque mesuré à 0°C (Johnston, 1987). Cependant, les différences sont moindres lorsqu'on exprime le taux de consommation d'oxygène par cm³ de mitochondries.

Lors de l'acclimatation/acclimatisation thermique des poissons des zones tempérées, des modifications importantes des capacités mitochondriales semblent accompagner des changements quantitatifs au niveau de la musculature de nage. Chez les poissons des zones tempérées qui font face au cours d'un cycle annuel à des variations importantes de température, une augmentation de la capacité aérobie du muscle s'observe lors de l'acclimatation au froid. Chez les espèces comme le poisson rouge (*Carassius auratus*), la carpe commune (*Cyprinus carpio*), la carpe (*Carassius carassius*), le bar rayé (*Morone saxatilis*), le brochet maillé (*Esox niger*) et l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*), l'accroissement de la capacité aérobie au froid s'expliquerait en bonne partie par une réorganisation quantitative musculaire, dont une hausse de la proportion de fibres oxydatives dans la musculature, un accroissement de l'activité des enzymes du métabolisme aérobie et une augmentation de la fraction volumique mitochondriale dans les fibres musculaires (articles de revue: Guderley, 1990; Johnston, 1993; Sängner, 1993). Chez le poisson rouge et le bar rayé, on n'observe pas un accroissement de la densité de surface des crêtes des mitochondries lors de l'acclimatation au froid (Tyler et Sidell, 1984; Egginton et Sidell, 1989). Cependant, l'acclimatation thermique modifie l'énergie d'activation apparente et la composition en phospholipides des mitochondries isolées du muscle rouge du poisson rouge et de la carpe commune (Van den Thillart et Modderkolk, 1978; Van den Thillart et De Bruin, 1981; Wodtke, 1981a,b). Ces changements de composition en phospholipides qui surviennent lors de l'acclimatation au froid peuvent rehausser l'activité de certaines enzymes mitochondriales (Hazel, 1972; Wodtke, 1981b). De plus, les propriétés fonctionnelles des mitochondries isolées peuvent être modifiées lors de l'acclimatation au froid. En effet, les mitochondries isolées du muscle rouge des crapauds de mer (*Myoxocephalus scorpius*) acclimatés au froid possèdent des taux d'oxydation du pyruvate et du palmitoyl carnitine plus élevés que celles provenant des poissons acclimatés au chaud, pour une température d'essai donnée (Guderley et Johnston, 1996).

Malgré le fait que la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*, subisse des variations de température considérables au cours des saisons et demeure active lors des périodes froides, on observe peu de modifications quantitatives dans la musculature chez ce poisson lorsqu'exposé au froid. En effet, l'acclimatation et l'acclimatisation au froid chez la truite ne semblent pas amener de compensation positive de l'activité des enzymes mitochondriales (Guderley et Gawlicka, 1992; Thibault *et al.*, 1997) même si Milanesi et Bird (1972) ont observé que l'acclimatation au froid augmentait l'activité de la CCO. La capacité relative d'oxydation des lipides est plus élevée chez les truites acclimatées/acclimatisées au froid comparativement à celles acclimatées/acclimatisées au chaud (Dean, 1969; Guderley et Gawlicka, 1992; Thibault *et al.*, 1997). La performance de nage à vitesse de pointe chez la truite n'est que très légèrement modifiée lors de l'acclimatation au froid (Johnson *et al.*, 1996). L'acclimatisation au froid augmente la proportion de muscle rouge chez la truite, quoique la plus grande capacité d'exercice soutenu soit présente chez les truites acclimatisées à une température intermédiaire (Taylor *et al.*, 1996). Pour leur part, les mitochondries isolées du muscle rouge des truites acclimatisées au froid montrent une compensation positive des capacités d'oxydation maximale du pyruvate et du palmitoyl carnitine (Guderley *et al.*, sous presse). Ceci peut probablement s'expliquer, du moins en partie, par l'importante réorganisation membranaire qu'on observe chez la truite arc-en-ciel à basse température (Hazel et Williams, 1990; Miranda et Hazel, 1996; Guderley *et al.*, sous presse).

Les changements des propriétés mitochondriales qui surviennent lors de l'acclimatisation au froid chez la truite arc-en-ciel et lors de l'acclimatation au froid chez le crapaud de mer semblent plus considérables que ceux qui sont survenus au cours de l'évolution, lors de la spécialisation pour la vie dans un environnement constamment froid. Cependant, le fait que les changements qualitatifs et quantitatifs n'aient pas été examinés de façon simultanée représente une difficulté considérable dans nos connaissances sur les réponses compensatrices à la température. Ainsi, il est bien difficile d'évaluer l'importance relative de ces deux niveaux de changements. Il sera toujours difficile d'établir sans équivoque un manque de changements qualitatifs lors de l'évolution étant donné les difficultés inhérentes aux comparaisons interspécifiques, alors que l'acclimatation/acclimatisation d'une espèce le permettra plus

facilement. Le but principal de cette étude était donc d'examiner si la compensation positive marquée de la capacité oxydative mitochondriale lors de l'acclimatation au froid chez la truite arc-en-ciel est accompagnée de changements dans les propriétés ultrastructurales des fibres et des mitochondries. Afin d'estimer précisément la nature des changements modifiant la capacité oxydative musculaire, une étude regardant plusieurs niveaux d'organisation biologique parallèlement était essentielle. Ainsi, nous avons comparé (1) le taux de consommation maximal d'oxygène de mitochondries isolées, (2) les activités enzymatiques du muscle rouge et des mitochondries isolées, (3) l'ultrastructure des fibres musculaires et (4) la densité de surface des crêtes des mitochondries chez des truites arc-en-ciel acclimatées aux conditions hivernales avec ces mêmes variables chez des truites acclimatées aux conditions estivales. Il est à noter que toutes ces variables ont été mesurées sur chacun des individus échantillonnés. Aucune étude n'a déjà mesuré tous ces paramètres simultanément sur une même espèce de poisson. Les activités enzymatiques que nous avons mesurées sont la CS et la CCO (capacité oxydative mitochondriale), la carnitine palmitoyl transférase, CPT (oxydation des acides gras) et la phosphofruktokinase, PFK (glycolyse). Dans cette expérience, l'acclimatation signifie que les truites étaient maintenues dans un petit étang où elles étaient exposées à des changements naturels de température et de photopériode.

Matériel et Méthode

Poissons

Des truites arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*, ont été obtenues d'une pisciculture locale, la Ferme piscicole Richard Boily, Ile d'Orléans, Québec. Les truites ont cru jusqu'à une longueur de 22 cm dans une pisciculture de la région de la Restigouche (Québec). Par la suite, elles ont été transportées à la Ferme piscicole Richard Boily où elles étaient gardées dans un étang à l'extérieur. Les truites ont donc été exposées aux changements saisonniers de température et de photopériode. Les truites ont été nourries à satiété quotidiennement avec une nourriture à base de crevettes. La densité de population des poissons était inférieure à 60 par m³. L'eau de l'étang provient d'un puit artésien, et son pH (environ 6.5) est resté stable durant la durée de cette étude.

Les truites ont été échantillonnées en février (n=9), à une température de 1°C et une photopériode de 10L:14N, et en août (n=11), à une température de 16°C et une photopériode de 15L:9N. Après le transport des truites à l'Université Laval, ces dernières ont été maintenues dans ces conditions de température et de photopériode dans un aquarium de 500 l pour une durée maximale de 10 jours. Ceci a permis aux truites de récupérer du stress occasionné par le transport. Les truites échantillonnées dans les mois de février et août possédaient une masse moyenne de 243 ± 14 g et 543 ± 21 g et une longueur moyenne de 27,7 ± 0,4 cm et 35,0 ± 0,6 cm (moyenne ± e.s.) respectivement. Les différences de taille se sont avérées nécessaires afin de pouvoir faire des préparations mitochondriales de qualité adéquate durant l'été.

Stratégie d'échantillonnage

Les poissons ont été tués par un coup sur la tête suivi du sectionnement de la moëlle épinière. Ils ont été pesés et mesurés. Ensuite, le muscle rouge a été prélevé à deux endroits sur le premier côté du poisson pour les études suivantes:

- **Respirométrie:** le muscle rouge a été échantillonné le long de la ligne latérale (moitiés dorsale et ventrale du muscle par rapport à la ligne latérale).
- **Microscopie électronique:** un morceau de muscle rouge a été disséqué au niveau de la nageoire adipeuse (moitiés dorsale et ventrale du muscle par rapport à la ligne latérale).

Après avoir effectué ces prélèvements, les poissons ont été congelés à -80°C pour des études ultérieures sur le deuxième côté du poisson. Ces études consistaient en la détermination des activités enzymatiques et des concentrations protéiques totales du muscle rouge. Le muscle rouge requis pour les études enzymatiques a été échantillonné à deux endroits, soit le long de la ligne latérale (la moitié dorsale du muscle par rapport à la ligne latérale) et au niveau de la nageoire adipeuse (la moitié ventrale du muscle par rapport à la ligne latérale). Nous avons effectué ce prélèvement au niveau de la nageoire adipeuse afin de voir si le morceau de muscle échantillonné pour la microscopie électronique était représentatif des languettes de muscle que nous avons échantillonnées pour les mesures de respiration mitochondriale et d'activités enzymatiques. Nous avons conservé une partie des homogénats de muscle rouge utilisés pour les mesures d'activités enzymatiques afin d'établir leur concentration protéique totale.

Afin de déterminer les activités enzymatiques des mitochondries isolées et la concentration protéique des préparations mitochondriales du muscle rouge, nous avons conservé une partie de chacune de nos suspensions mitochondriales et les avons congelées à -80°C .

Respirométrie

Isolement des mitochondries

Le muscle rouge frais a été coupé en de fins petits morceaux à l'aide de lames de rasoir. Les mitochondries ont été isolées à 4°C dans 10 volumes (v/m) d'un milieu d'isolation contenant (en mM): 140, KCl; 10, EDTA; 5, MgCl_2 ; 20, Hepes et 2% albumine de sérum de boeuf, pH 7,3 ajusté à 20°C (Moyes *et al.*, 1989). Les morceaux de muscle ont été broyés pour une première fois à faible vitesse à l'aide d'un Polytron (Brinkman Instrument; Rexdale, Ontario, Canada) afin d'éliminer la majorité du tissu conjonctif. Le muscle a ensuite été homogénéisé à l'aide d'un homogénéisateur de tissu Potter Elvehjelm (2 passages à 900 rpm). L'homogénat a été centrifugé à 1400 g pour 5 min à 4°C dans une centrifugeuse Sorval RC-5B, et le surnageant a été récupéré et centrifugé pour 9 min à 9000 g. Le culot a été resuspendu à une concentration finale d'environ 10 mg/ml dans un milieu de réaction contenant (en mM): 140, KCl; 20, Hepes; 5, K_2HPO_4 et 0,5% albumine de sérum bovin, pH 7,3 ajusté à 20°C .

Respiration mitochondriale

La consommation d'oxygène par les mitochondries a été mesurée par la méthode polarographique en utilisant des électrodes à oxygène de type Clark (Yellow Springs Instruments, Yellow Springs, Ohio). La chambre respirométrique (Cameron Instruments, Port Aransas, Texas) a été maintenue aux températures expérimentales à l'aide d'un bain thermorégulé. L'électrode était connectée à un oxymètre (Cameron Instruments, Port Aransas, Texas) et à un enregistreur (Baxter Canlab, Montréal, Canada). La calibration de l'appareil a été effectuée avec le milieu de réaction saturé en oxygène pour chacune des températures expérimentales (1, 8, 15 et 22°C pour les poissons d'hiver et 8, 15 et 22°C pour les poissons d'été), et le zéro de saturation d'oxygène a été obtenu en ajoutant de la dithionite de sodium. À chaque essai, environ 0,3 mg de protéines mitochondriales a été ajouté à 1,0 ml du milieu de réaction. Le pyruvate et le palmitoyl carnitine ont été utilisés en concentrations saturantes, soit 2,36 mM et 0,0943 mM respectivement. Avant de mesurer la consommation d'oxygène due à l'oxydation de ces deux substrats, nous avons ajouté du malate (0,37 mM) afin de fournir les intermédiaires du cycle de Krebs. Le taux maximal de consommation d'oxygène (stade 3) a été obtenu en ajoutant 0,47 mM ADP. Le stade 4 a été déterminé après que tout l'ADP ait été phosphorylé. L'indice du contrôle respiratoire (RCR), un indicateur de la qualité de la préparation mitochondriale, a été calculé en divisant le stade 3 par le stade 4. Seulement les préparations mitochondriales possédant un RCR supérieur à 4 ont été utilisées. Les taux d'oxydation du pyruvate et du palmitoyl carnitine ont été déterminés à toutes les températures expérimentales pour chacune des préparations.

Concentration protéique des suspensions mitochondriales

Afin de déterminer le contenu en protéines des mitochondries, un aliquot de 50 µl de la suspension mitochondriale a été resuspendu dans 1 ml du milieu de réaction sans albumine sérique de boeuf et centrifugé à 13 200 g à la température de la pièce pour 10 min. Le surnageant a été jeté, et le culot a été resuspendu et centrifugé encore deux fois afin d'ôter l'albumine sérique de boeuf. La concentration protéique du culot a été déterminée à l'aide de la méthode de l'acide bicinchoninique (Smith *et al.*, 1985) en utilisant du Triton X-100 2% pour solubiliser les membranes.

Enzymes

Homogénéisation du tissu

Le muscle rouge a été échantillonné comme décrit ci-haut. Les échantillons de muscle rouge ont été déposés dans 10 volumes (v/m) de tampon d'homogénéisation contenant (en mM): 50, imidazole-HCl; 2, MgCl₂; 5, EDTA; 1, glutathion réduit; 0,2, fructose-2,6-biphosphate et Triton X-100 0,1%, pH 7,5 ajusté à la température de la pièce. Les échantillons ont été homogénéisés sur la glace en utilisant le Polytron à 50% de sa vitesse maximale durant trois périodes de 10 s. Entre chacune des périodes, il y a eu un temps d'arrêt sur glace afin que les échantillons se maintiennent froids. Tous les homogénats ont été centrifugés à 300 g pour 10 min à 4°C dans la centrifugeuse Sorval RC-5B afin de clarifier les surnageants. L'utilisation de Triton dans le tampon d'homogénéisation et l'absence de centrifugation à grande vitesse des homogénats de muscle permettent d'obtenir une activité maximale de la CCO (Tyler et Nathanailides, 1995).

Dilution des suspensions mitochondriales

Les suspensions mitochondriales ont été déposées dans 10 volumes (v/v) de tampon d'homogénéisation contenant (en mM): 50, imidazole-HCl; 2, MgCl₂; 5, EDTA; 1, glutathion réduit et Triton X-100 0,1%, pH 7,5 ajusté à la température de la pièce.

Activités enzymatiques du muscle rouge

Un spectrophotomètre UV/Vis (Beckman DU 640) a été utilisé pour mesurer les activités enzymatiques. Les essais enzymatiques ont été effectués à 1, 8, 15 et 22°C pour les truites acclimatées aux conditions hivernales et à 8, 15 et 22°C pour les truites acclimatées aux conditions estivales. Les activités enzymatiques du morceau de muscle rouge correspondant à celui utilisé pour la microscopie électronique ont été mesurées à 8°C seulement. La température des cuvettes a été contrôlée par un bain d'eau thermorégulée (Haake D8). Les dosages de la PFK ont suivi la disparition du NADH à 340 nm. Les activités de la CS et de la CPT ont été mesurées à 412 nm afin de détecter le transfert des groupes sulfhydryls vers l'acide 5,5' dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB). Les essais de la CCO ont été effectués à 550 nm afin de suivre l'oxydation de la cytochrome C réduite. Les coefficients

d'extinction du NADH, du DTNB et de la cytochrome C sont de 6,22, 13,6 et 19,1 $\text{cm}^{-1} \mu\text{mol}^{-1}$ respectivement. La concentration de l'extrait a été ajustée de façon à obtenir une réponse linéaire durant au moins 2 min, mais les réactions ont été mesurées durant 6 min. Les réactions à plusieurs substrats ont été initiées en ajoutant le substrat qui était omis du contrôle. Tous les essais enzymatiques ont été effectués en duplicat. Les activités enzymatiques sont exprimées en unités (μmol de substrat transformé en produit par min par g de tissu frais). Les conditions d'essai sont basées sur celles de Thibault *et al.* (1997). Les enzymes ont été dosées selon les conditions suivantes:

Cytochrome C oxidase (EC 1.9.3.1): (en mM) 100, phosphate de potassium et 0,05, cytochrome C réduite pH 7,5. Les réactions ont été lues contre une référence de cytochrome C oxydée avec du ferricyanure de potassium 0,33% (m/v). La réduction du cytochrome C a été faite avec l'addition de dithionite. L'excès de dithionite a été enlevé en bullant la solution de cytochrome C avec de l'air (Hodges et Leonard, 1974).

Citrate synthase (EC 4.1.3.7): (en mM) 100, Tris-HCl; 0,1 DTNB; 0,1, acétyl CoA et 0,15, oxaloacétate (omis du contrôle), pH 8,0.

Phosphofructokinase (EC2.7.1.11): (en mM) 75, Tris-HCl; 200, KCl; 6, MgCl_2 ; 2 AMP; 2,5, ATP (omis du contrôle); 0,16, NADH; 5, fructose-6-phosphate; 10 U triose phosphate isomérase, 2 U glycérol-3-phosphate déshydrogénase et 2 U aldolase, pH 8,0.

Carnitine palmitoyl transférase (EC 2.3.1.21): (en mM) 75, Tris-HCl; 1,5, EDTA; 0,25, DTNB; 0,035, palmitoyl CoA et 2, L-carnitine (omis du contrôle), pH 8,0.

Activités enzymatiques des suspensions mitochondriales

Les essais enzymatiques ont été effectués à 1, 8, 15 et 22°C pour les truites acclimatées aux conditions hivernales et à 8, 15 et 22°C pour les truites acclimatées aux conditions estivales. Nous avons mesuré l'activité de la CCO, de la CS et de la CPT. Les activités enzymatiques sont exprimées en unités (μmol de substrat transformé en produit par minute) par mg de protéine mitochondriale. Les conditions de dosage étaient les mêmes que celles décrites pour les échantillons de muscle rouge.

Concentration protéique totale du muscle rouge

Afin de faciliter la solubilisation des protéines, de l'urée et de l'acide acétique ont été ajoutés aux échantillons d'homogénats de muscle rouge (Somero et Childress, 1990). La concentration protéique totale a été déterminée en utilisant de l'acide bicinchoninique (Smith *et al.*, 1985).

Concentration de protéines mitochondriales du muscle rouge

La concentration en protéines mitochondriales dans le muscle rouge a été calculée en divisant les activités de la CCO et de la CS mesurées dans le muscle rouge par celles mesurées dans les suspensions mitochondriales (U/g tissu frais \cdot mg protéine mitochondriale/U = mg protéine mitochondriale/g tissu frais).

Effets de l'allométrie sur l'activité enzymatique

Des poissons de masse moyenne de 189 ± 15 g et de longueur moyenne de $25,1 \pm 0,5$ cm (moyenne \pm e.s.) ont été échantillonnés au mois d'août (n=9) à une température de 17°C et une photopériode de 15L:9N afin de vérifier si les truites de cette taille possédaient les mêmes activités enzymatiques que celles utilisées pour les préparations de mitochondries durant l'été. Nous avons choisi cette période d'échantillonnage afin de comparer l'activité des enzymes du muscle rouge des deux groupes de poissons échantillonnés au mois d'août. De plus, ceci a permis de comparer les activités enzymatiques du muscle rouge de ce groupe avec celles des poissons échantillonnés à l'hiver possédant une masse et une longueur moyenne similaires.

Ces truites ont été transportées et maintenues de la même façon que les deux autres groupes de poissons. Après 10 jours, les truites ont été sacrifiées et congelées à -80°C. Les échantillons de muscle rouge ont été prélevés et homogénéisés de la même façon que pour les deux autres groupes de poissons. Pour ce groupe de poissons, nous avons mesuré l'activité de trois enzymes, soit la CCO, CS et PFK, à une seule température, soit 15°C.

Microscopie électronique

Préparation du tissu

Les échantillons de muscle rouge ont été fixés une première fois dans une solution contenant du glutaraldéhyde 2%, cacodylate 0,1M et CaCl₂ 0,05% (m/v), pH 7,2 et une seconde fois dans une solution contenant du tetroxide d'osmium (OsO₄) 2%, cacodylate 0,1M et CaCl₂ 0,05% (m/v), pH 7,2. Les échantillons ont été rincés deux fois après chaque fixation dans une solution de cacodylate 0,1M et CaCl₂ 0,05%, pH 7,2. Ensuite, ils ont été déshydratés dans une série de concentrations croissantes d'éthanol (30 à 100%), puis transférés dans l'oxyde de propylène et finalement imprégnés dans des solutions contenant un mélange d'oxyde de propylène-épon avec un rapport décroissant (1:1 jusqu'à 1:3 et ensuite épon pur). L'oxyde de propylène a servi d'agent infiltrant. Pour chacun des groupes de poissons, 3 blocs ont été choisis au hasard, parmi les 7 préparés par poisson, et coupés à un angle légèrement oblique à celui de l'axe longitudinal des fibres, comme suggéré par James et Meek (1979).

Stéréologie

1) Ultrastructure des fibres

Les sections ultraminces (≈ 90 nm) des fibres ont été déposées sur des grilles de nickel (150 mailles) puis colorées avec de l'acétate d'uranyl 2%- éthanol 50% et du citrate de plomb (technique de préparation de Reynolds). Par la suite elles ont été observées à l'aide d'un microscope électronique à transmission (JEOL 1200 EX). Des micrographies de 9 fibres choisies au hasard par poisson pour chacun des groupes ont été prises à 1500X et imprimées à un grossissement final de 3800X. Les fractions volumiques des mitochondries totales (Vv (mt,f)), mitochondries subsarcolemmales (Vv (ms,f)), mitochondries intermyofibrillaires (Vv (mi,f)), lipides (Vv (lip,f)) et myofibrilles (Vv (myo,f)) ont été estimées par la méthode de comptage de points (Weibel, 1979). L'espace entre les carrés du quadrillage était >1 et $<1,5$ fois la dimension moyenne des profils d'intérêt, soit $1,32 \mu\text{m}$.

2) Ultrastructure des mitochondries

Des micrographies de 18 mitochondries intermyofibrillaires sélectionnées au hasard par poisson ont été prises à 30 000X et imprimées à un grossissement final de 75 000X. La densité

de surface des crêtes (S_v (cr, μm^2)) (le rapport de la surface de la membrane interne sur le volume mitochondrial) a été déterminée à l'aide d'un système d'intersections de lignes (Weibel, 1979). L'espace entre les carrés du quadrillage était de $0,067 \mu\text{m}$. Nous avons tracé le contour des crêtes afin d'accentuer le contraste avant de faire le comptage. Aucune correction n'a été effectuée pour les effets dus à l'épaisseur des coupes ou à la compression.

Calculs et analyses statistiques

Les coefficients de solubilité de l'oxygène déterminés par coulométrie (Johnston *et al.*, 1994) ont été utilisés pour évaluer le contenu en oxygène du milieu de réaction des mitochondries (études respirométriques) à chacune des températures expérimentales. L'indice de consition des poissons a été calculé en utilisant la formule suivante: poids (g)/longueur (cm)³ · 1000.

Les comparaisons statistiques ont été effectuées à l'aide de StatView (Abacus Concepts, Berkeley, California). Des analyses statistiques non-paramétriques ont été utilisées. Les comparaisons entre les saisons ont été effectuées par un test de Mann-Whitney U, alors que celles entre les sites de prélèvement du muscle rouge ont été déterminées par un test de rang de Wilcoxon. Les effets allométriques ont été évalués par un test de Mann-Whitney U. Le seuil de signification statistique était de $P = 0,05$.

Résultats

Taille des poissons

Les poissons d'été ($12,7 \pm 0,3$; moyenne \pm e.s.) avaient un indice de condition plus élevé que les poissons d'hiver ($10,9 \pm 0,6$; $P \leq 0,05$; test de Mann-Whitney U). Les poissons d'été (543 ± 21 g et $35,0 \pm 0,6$ cm) étaient plus gros que les poissons d'hiver (243 ± 14 g et $27,7 \pm 0,4$ cm; $P \leq 0,05$; test de Mann-Whitney U). Les poissons utilisés durant l'été afin d'évaluer les effets allométriques sur les activités enzymatiques (189 ± 15 g et $25,1 \pm 0,5$ cm) étaient plus petits que les poissons d'hiver ($P \leq 0,05$; test de Mann-Whitney U). La différence de taille entre les deux groupes de poissons d'été utilisés pour déterminer les effets allométriques était donc plus grande que la différence entre les truites d'hiver et celles d'été échantillonnées pour vérifier les effets de l'acclimatation thermique. Étant donné la relation inverse entre les activités des enzymes du métabolisme aérobie et la taille des organismes, les conclusions obtenues quant aux effets allométriques sur le métabolisme aérobie des truites d'été ne sont que plus conservatrices.

Respirométrie

Variations saisonnières des taux d'oxydation maximale des substrats par les mitochondries isolées

Les taux d'oxydation maximale (stade 3) du pyruvate et du palmitoyl carnitine par les mitochondries isolées étaient plus élevés pour les truites acclimatées aux conditions hivernales comparativement à celles acclimatées aux conditions estivales, lorsque mesurés à 8 et 15°C ($P \leq 0,05$; fig. 1). Lorsque mesurés à 22°C, cette différence était significative seulement pour le palmitoyl carnitine. La capacité d'oxydation maximale relative du pyruvate et du palmitoyl carnitine ne change pas entre les truites d'hiver et celles d'été ($P > 0,05$; test de Mann-Whitney U).

Nous avons comparé les taux d'oxydation maximale des deux substrats à la température de l'habitat en assumant une dépendance linéaire avec la température (Q_{10}) entre 15 et 22°C pour les truites acclimatées aux conditions estivales. La comparaison entre ces

taux pour le pyruvate et le palmitoyl carnitine (pyruvate: $46,29 \pm 2,63$ natome O/min/mg protéine mitochondriale, moyenne \pm e.s., à 1°C et $106,47$ natome O/min/mg protéine mitochondriale à 16°C; palmitoyl carnitine: $54,57 \pm 4,48$ natome O/min/mg protéine mitochondriale à 1°C et $109,12$ natome O/min/mg protéine mitochondriale à 16°C) montre que l'augmentation de la capacité aérobie des truites d'hiver ne compense pas complètement pour la diminution des taux d'oxydation maximale occasionnée par la baisse de température au cours de l'hiver.

Concentrations protéiques

Les concentrations protéiques totales des échantillons de muscle rouge prélevés le long de la ligne latérale et au niveau de la nageoire adipeuse ne différaient pas entre les truites d'hiver et celles d'été ($P > 0,05$; tableau 1). Pour les truites acclimatées aux conditions estivales, les protéines totales des échantillons de muscle rouge prélevés au niveau de la nageoire adipeuse était plus élevées que celles des échantillons de muscle rouge prélevés le long de la ligne latérale ($P \leq 0,05$). On n'observait pas un tel résultat pour les truites d'hiver ($P > 0,05$). Ceci indique que la concentration en protéines totales du muscle rouge peut varier longitudinalement.

La concentration en protéines mitochondriales du muscle rouge était plus élevée pour les truites acclimatées aux conditions hivernales comparativement à celles acclimatées aux conditions estivales ($P \leq 0,05$; tableau 1). Cette hausse va de pair avec une augmentation de la capacité aérobie des truites d'hiver comparativement à celles d'été (voir section suivante). En considérant les effets allométriques sur l'activité de la CCO (tableau 2) et en assumant que la taille n'affecte pas les activités de la CCO exprimées en U/mg protéine mitochondriale, la concentration en protéines mitochondriales du muscle rouge demeure toujours plus élevée pour les poissons d'hiver que ceux d'été ($P \leq 0,05$; données non-présentées).

Activités enzymatiques

Activités enzymatiques du muscle rouge

La comparaison des activités enzymatiques du muscle rouge des truites d'hiver et d'été à une température d'essai donnée nous a permis de regarder si la concentration des enzymes variait de façon saisonnière. Les niveaux de CCO, de CS et de CPT étaient plus élevés pour les truites acclimatées aux conditions hivernales comparativement à celles acclimatées aux conditions estivales ($P \leq 0,05$; tableau 3). L'acclimatation au froid a conduit à une plus grande augmentation du niveau des enzymes membranaires (CCO et CPT) comparativement à l'enzyme matricielle (CS; tableau 2). Par contre, on n'a observé aucun accroissement du niveau de la PFK lors de l'acclimatation au froid ($P > 0,05$; tableau 3). Toutes ces conclusions ne sont pas modifiées lorsqu'on considère les effets allométriques sur les activités enzymatiques. En effet, les niveaux de CS et de PFK ne différaient pas entre les gros et les petits poissons d'été ($p > 0,05$; tableau 2). Par contre, le niveau de CCO était significativement plus élevé chez les petits poissons que chez les gros poissons ($p \leq 0,05$; tableau 2). Cette différence allométrique ne modifie pas nos conclusions qualitatives car lorsqu'on compare à 15°C l'activité de la CCO des petits poissons acclimatés aux conditions hivernales avec celle des petits poissons acclimatés aux conditions estivales (tableau 2 vs tableau 3), les poissons d'hiver possèdent toujours une activité significativement plus élevée que celle des poissons d'été ($P \leq 0,05$; test de Mann-Whitney U). Ceci indique toujours une hausse du niveau de CCO chez les truites d'hiver, et cette hausse demeure plus importante que celle subie par la CS.

Nous avons comparé les activités enzymatiques du muscle rouge à la température de l'habitat afin de regarder le degré de compensation de la capacité maximale des enzymes lors de l'acclimatation au froid. Nous avons assumé une dépendance linéaire des activités enzymatiques avec la température entre 15 et 22°C pour les truites acclimatées aux conditions estivales. Les capacités maximales de la CCO ($37 \pm 3,5$ U/g tissu frais, moyenne \pm e.s. à 1°C et 25,8 U/g tissu frais à 16°C) et de la CPT ($0,24 \pm 0,02$ U/g tissu frais à 1°C et 0,28 U/g tissu frais à 16°C) montrent une plus grande compensation lors de l'acclimatation au froid que celles de la CS ($16 \pm 1,3$ U/g tissu frais à 1°C et 21,7 U/g tissu frais à 16°C). Il semble à prime abord y avoir une surcompensation des capacités maximales de la CCO lors de l'acclimatation

au froid. Cependant, le niveau de compensation des capacités maximales de la CCO est moindre, quoique toujours plus élevé que celui de la CS, lorsqu'on considère les effets allométriques sur l'activité de la CCO (tableau 2). Les truites acclimatées aux conditions hivernales ne montrent aucune compensation de l'activité de la PFK ($0,43 \pm 0,03$ U/g tissu frais à 1°C et 4,1 U/g tissu frais à 16°C).

Le patron de variation saisonnière de nos activités enzymatiques était identique si l'on exprimait nos données en U/g tissu frais ou en U/mg protéine totale (données non-présentées). Ainsi, les changements d'activités enzymatiques que nous avons obtenus entre l'hiver et l'été n'étaient pas dus à une variation saisonnière des concentrations protéiques.

Ensemble, ces données montrent que lors de l'acclimatation au froid, le muscle rouge de la truite arc-en-ciel augmente sa capacité aérobie et son métabolisme lipidique, mais ne manifeste aucun accroissement de ses capacités glycolytiques. De plus, les enzymes du compartiment membranaire (CCO et CPT) de la mitochondrie semblent capables d'une plus grande compensation de leur capacité maximale lors d'une acclimatation au froid que l'enzyme du compartiment matriciel (CS).

Activités enzymatiques des suspensions mitochondriales

La comparaison des activités enzymatiques des suspensions mitochondriales des truites d'hiver et d'été à une température d'essai donnée, nous a permis de regarder si la concentration des enzymes à l'intérieur des mitochondries variait de façon saisonnière. Les activités enzymatiques des suspensions mitochondriales sont exprimées en U/mg protéine mitochondriale. Étant donné que l'activité maximale d'une enzyme est fonction de sa concentration, une plus grande activité d'une enzyme mitochondriale en hiver qu'en été, pour une température d'essai précise, suggérerait que l'abondance relative de cette enzyme dans un milligramme de protéine mitochondriale est plus élevée en hiver qu'en l'été. Les activités de la CCO et de la CPT à 15 et 22°C étaient plus élevées pour les truites acclimatées aux conditions hivernales comparativement à celles acclimatées aux conditions estivales ($P \leq 0,05$; tableau 4). La CS des truites d'hiver possédait une activité plus élevée à 8°C que celle des

truites d'été ($P \leq 0,05$; tableau 4). Ensemble, ces données montrent une augmentation de la concentration des enzymes impliquées dans le métabolisme aérobie (CS et CCO) et dans le transport des lipides (CPT) à l'intérieur des mitochondries lors de l'acclimatation au froid. Ainsi, les propriétés intrinsèques des mitochondries semblent modifiées lors de l'acclimatation au froid. Il n'y avait pas de variations saisonnières des Q_{10} de la CCO et de la CPT dans les intervalles 8-15°C et 15-22°C. Le Q_{10} de la CS dans l'intervalle 8-15°C était plus élevé pour les truites d'été que celles d'hiver, mais il n'y avait aucune différence saisonnière dans l'intervalle 15-22°C (données non-présentées).

Microscopie électronique

Représentativité des échantillons de muscle rouge prélevés pour la microscopie électronique

Les échantillons de muscle prélevés pour la microscopie électronique (nageoire adipeuse) chez les truites d'hiver possédaient des niveaux de CCO et de CPT plus élevés que ceux prélevés chez les truites d'été ($p \leq 0,05$; tableau 5). Par contre, il n'y avait aucune différence dans les niveaux de CS et de PFK entre les échantillons de muscle prélevés pour la microscopie électronique en hiver et ceux prélevés en été ($P > 0,05$; tableau 5). Ainsi, les échantillons de muscle utilisés pour la microscopie électronique à l'hiver et à l'été démontraient les mêmes variations saisonnières des niveaux de CCO, CPT et PFK, mais non du niveau de CS, que les languettes de muscle utilisées pour les analyses enzymatiques et la respirométrie (ligne latérale; tableau 3). En effet, les échantillons de muscle utilisés pour la microscopie électronique chez les truites d'été surestimaient les niveaux de CS comparativement aux languettes prélevées pour les études enzymatiques et la respirométrie au cours de la même saison ($P \leq 0,05$; tableaux 3 et 5). Ensemble, ces données suggèrent que les échantillons de muscle utilisés pour effectuer les études ultrastructurales étaient représentatifs des échantillons prélevés pour effectuer les études enzymatiques et la respirométrie, à l'exception des niveaux de CS qui ne démontraient pas une différence significative entre les saisons chez les échantillons prélevés pour la microscopie électronique. Néanmoins, les niveaux de CS dans les échantillons utilisés pour la microscopie électronique à l'hiver tendaient à être plus élevés que dans les échantillons utilisés à l'été (tableau 5).

Ultrastructure des fibres et des mitochondries

La fraction volumique des mitochondries à l'intérieur des fibres musculaires ainsi que la distribution des mitochondries entre les compartiments subsarcolemmal et intermyofibrillaire n'ont pas été modifiées lors de l'acclimatation au froid ($P > 0,05$; tableau 6 et figure 2). Par contre, la proportion des lipides à l'intérieur des fibres était plus grande lors de l'acclimatation au froid ($P \leq 0,05$). L'accroissement de la proportion des lipides dans les fibres musculaires chez les truites d'hiver a contribué à une diminution de la fraction volumique des myofibrilles ($P \leq 0,05$).

La densité de surface des crêtes des mitochondries (S_v (cr, mi)) était plus élevée chez les truites d'hiver que celles d'été ($P \leq 0,05$; tableau 6 et figure 3). Ce résultat vient appuyer l'augmentation des niveaux de CCO et CPT à l'intérieur des mitochondries chez les truites d'hiver (tableau 3). Ainsi, l'augmentation de la capacité aérobie musculaire des truites acclimatées aux conditions hivernales n'est pas due à une augmentation de la fraction volumique mitochondriale, mais, du moins en partie, à un accroissement de la concentration des enzymes aérobie à l'intérieur des mitochondries.

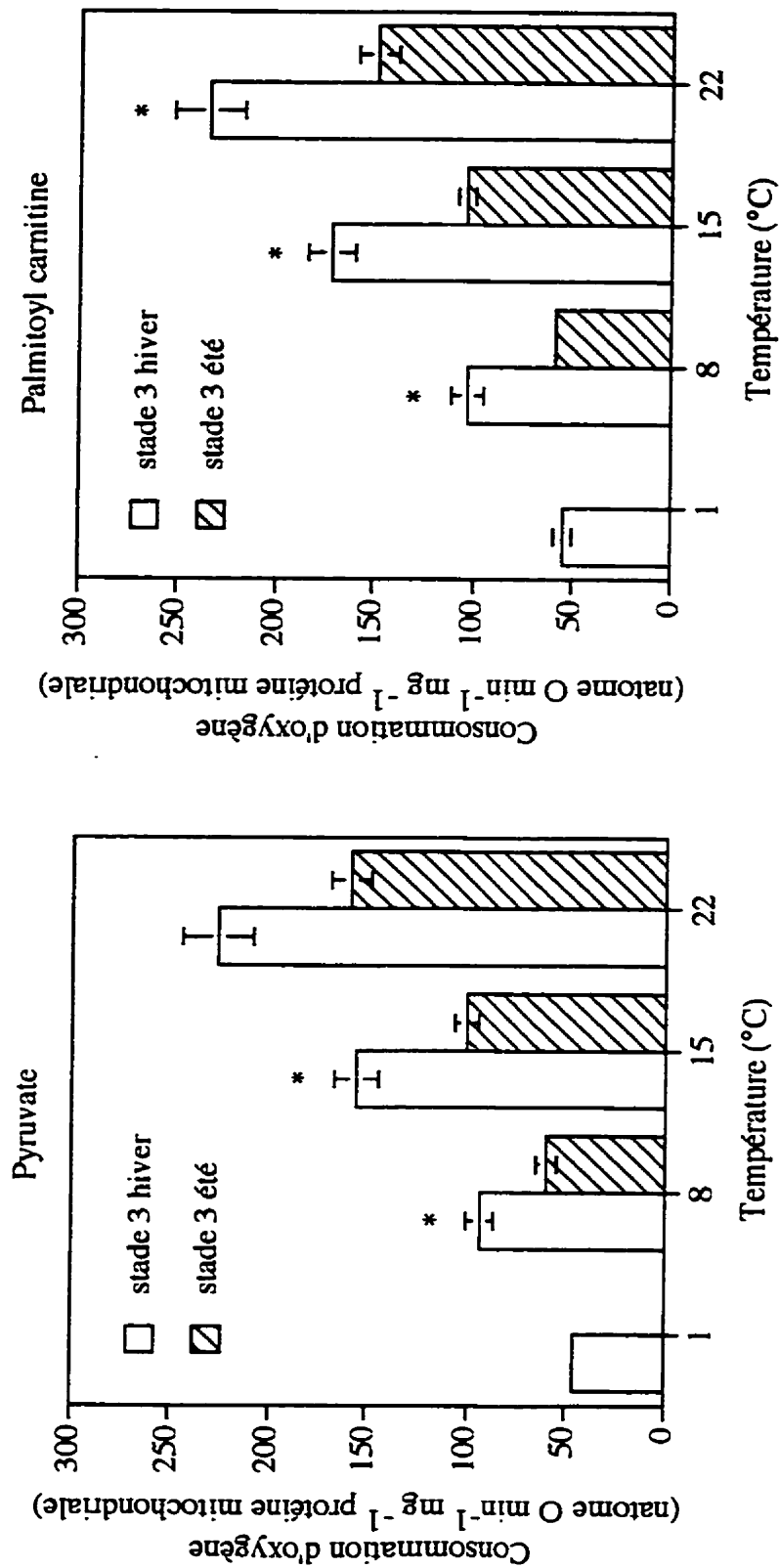


FIGURE 1. Sensibilité thermique des taux d'oxydation maximale du pyruvate et du palmitoyl carnitine par les mitochondries isolées du muscle rouge de truites arc-en-ciel acclimatées aux conditions hivernales et aux conditions estivales. Lorsque les barres de l'erreur standard ne sont pas présentes, c'est qu'elles sont trop petites pour être visibles sur la figure.

* Différence significative entre les saisons pour une température d'essai donnée $P \leq 0,05$.

Tableau 1. Influence du site de prélèvement du muscle rouge sur sa concentration protéique totale et effets de l'acclimatation thermique sur les concentrations protéiques totale et mitochondriale du muscle rouge de la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*

Protéines	Site de prélèvement	Saison	
		Hiver	Été
Totales	Ligne latérale	126,7 ± 4,7 (9)	117,7 ± 5,3 * (11)
	Nageoire adipeuse	129,9 ± 5,9 (9)	139,3 ± 6,7 (11)
Mitochondriales		28,2 ± 1,9 * (6)	16,1 ± 1,7 (6)

Les données sont présentées sous forme de moyenne ± E.S. et sont exprimées en mg/g tissu frais. Le nombre d'individus est indiqué entre parenthèses. Les sites de prélèvement pour les protéines totales sont décrits dans Matériel et Méthode.

* Différence significative entre les saisons $P \leq 0,05$ (test de Mann-Whitney U).

* Différence significative entre les deux sites de prélèvement pour les protéines totales à l'intérieur de la même saison $P \leq 0,05$ (test de rang de Wilcoxon).

Tableau 2. Effets de l'allométrie sur les activités enzymatiques du muscle rouge de la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*, acclimatée aux conditions estivales

Poissons	CCO	CS	PFK
Gros	24,9 ± 2,1 *	21,0 ± 0,9	3,9 ± 0,4
Petits	43,5 ± 4,3	19,3 ± 1,7	5,1 ± 0,7

Les données sont présentées sous forme de moyenne ± E.S.; n = 11 pour les gros poissons et n = 9 pour les petits poissons. Les activités enzymatiques sont exprimées en unités/g tissu frais. La température d'essai est de 15°C. La taille des poissons est décrite dans Matériel et Méthode.

* Différence significative entre les groupes de poissons $P \leq 0,05$.

Tableau 3. Effets de l'acclimatation thermique sur les activités enzymatiques du muscle rouge de la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*

Saison	Température d'essai (°C)	CCO	CS	CPT	PFK
Hiver	1	37,0 ± 3,5 (9)	16,0 ± 1,3 (9)	0,24 ± 0,02 (9)	0,43 ± 0,03 (7)
Été		nd	nd	nd	nd
Hiver	8	61,3 ± 5,4 * (9)	21,1 ± 1,5 * (9)	0,35 ± 0,03 * (9)	1,52 ± 0,14 (9)
Été		18,2 ± 1,7 (11)	15,5 ± 0,6 (11)	0,16 ± 0,02 (7)	1,94 ± 0,29 (10)
Hiver	15	86,6 ± 7,0 * (9)	29,1 ± 1,9 * (9)	0,55 ± 0,04 * (9)	3,75 ± 0,33 (9)
Été		24,9 ± 2,1 (11)	21,0 ± 0,9 (11)	0,27 ± 0,03 (11)	3,91 ± 0,42 (11)
Hiver	22	105,3 ± 8,4 * (9)	38,0 ± 2,6 * (9)	0,77 ± 0,06 * (9)	6,40 ± 0,47 (9)
Été		31,3 ± 2,0 (11)	26,4 ± 1,3 (11)	0,39 ± 0,03 (10)	5,76 ± 0,73 (11)

Les données sont présentées sous forme de moyenne ± E.S. et sont exprimées en unités/g tissu frais. Le nombre d'individus est indiqué entre parenthèses.

* Différence significative entre les saisons $P \leq 0,05$.

Tableau 4. Effets de l'acclimatation thermique sur les activités enzymatiques des mitochondries isolées du muscle rouge de la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*

Saison	Température d'essai (°C)	CCO	CS	CPT
Hiver	1	1,68 ± 0,19 (9)	0,64 ± 0,04 (9)	0,0096 ± 0,0013 (9)
Été		nd	nd	nd
Hiver	8	2,01 ± 0,17 (9)	0,87 ± 0,06 * (9)	0,0140 ± 0,0013 (9)
Été		1,58 ± 0,09 (10)	0,69 ± 0,02 (10)	0,0112 ± 0,0007 (8)
Hiver	15	2,70 ± 0,22 * (9)	1,19 ± 0,08 (9)	0,0227 ± 0,0023 * (6)
Été		2,04 ± 0,12 (10)	1,13 ± 0,06 (10)	0,0160 ± 0,0008 (10)
Hiver	22	3,27 ± 0,23 * (9)	1,68 ± 0,11 (9)	0,0300 ± 0,0028 * (9)
Été		2,53 ± 0,15 (10)	1,51 ± 0,03 (10)	0,0218 ± 0,0007 (9)

Les données sont présentées sous forme de moyenne ± E.S. et sont exprimées en unités/mg protéine mitochondriale.

Le nombre d'individus est indiqué entre parenthèses.

* Différence significative entre les saisons $P \leq 0,05$.

Tableau 5. Variations saisonnières des activités enzymatiques des échantillons de muscle rouge prélevés au niveau de la nageoire adipeuse chez la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*

Saison	CCO	CS	CPT	PFK
Hiver	83,4 ± 15,7 * (9)	22,8 ± 1,9 (9)	0,42 ± 0,04 * (9)	1,58 ± 0,15 (9)
Été	28,6 ± 3,7 (10)	20,6 ± 1,2 (10)	0,21 ± 0,01 (5)	2,05 ± 0,33 (9)

Les données sont présentées sous forme de moyenne ± E.S. et sont exprimées en unités/g tissu frais. Le nombre d'individus est indiqué entre parenthèses. La température d'essai est de 8°C.

* Différence significative entre les saisons $P \leq 0,05$ (test de Mann-Whitney U).

Tableau 6. Effets de la l'acclimatation thermique sur l'ultrastructure des fibres et des mitochondries du muscle rouge de la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*

Variable	Saison	
	Hiver	Été
Vv (ms,f)	11,3 ± 0,4	11,2 ± 0,8
Vv (mi,f)	15,4 ± 0,5	15,7 ± 0,5
Vv (mt,f)	26,9 ± 0,9	27,0 ± 1,0
Vv (myf,f)	56,3 ± 1,5 *	60,3 ± 0,7
Vv (lip,f)	10,0 ± 1,7 *	7,5 ± 0,6
Sv (cr,mi) ($\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$)	40,2 ± 0,6 *	36,4 ± 1,2

Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm E.S.; n = 9 pour l'hiver et n = 7 pour l'été. Vv signifie la fraction volumique occupée par (ms,f), les mitochondries subsarcolemmales, (mi,f), les mitochondries intermyofibrillaires, (mt,f), les mitochondries totales, (myf,f), les myofibrilles, (lip,f), les lipides. Sv (cr,mi) signifie la densité de surface des crêtes des mitochondries.

* Différence significative entre les saisons $P \leq 0,05$.

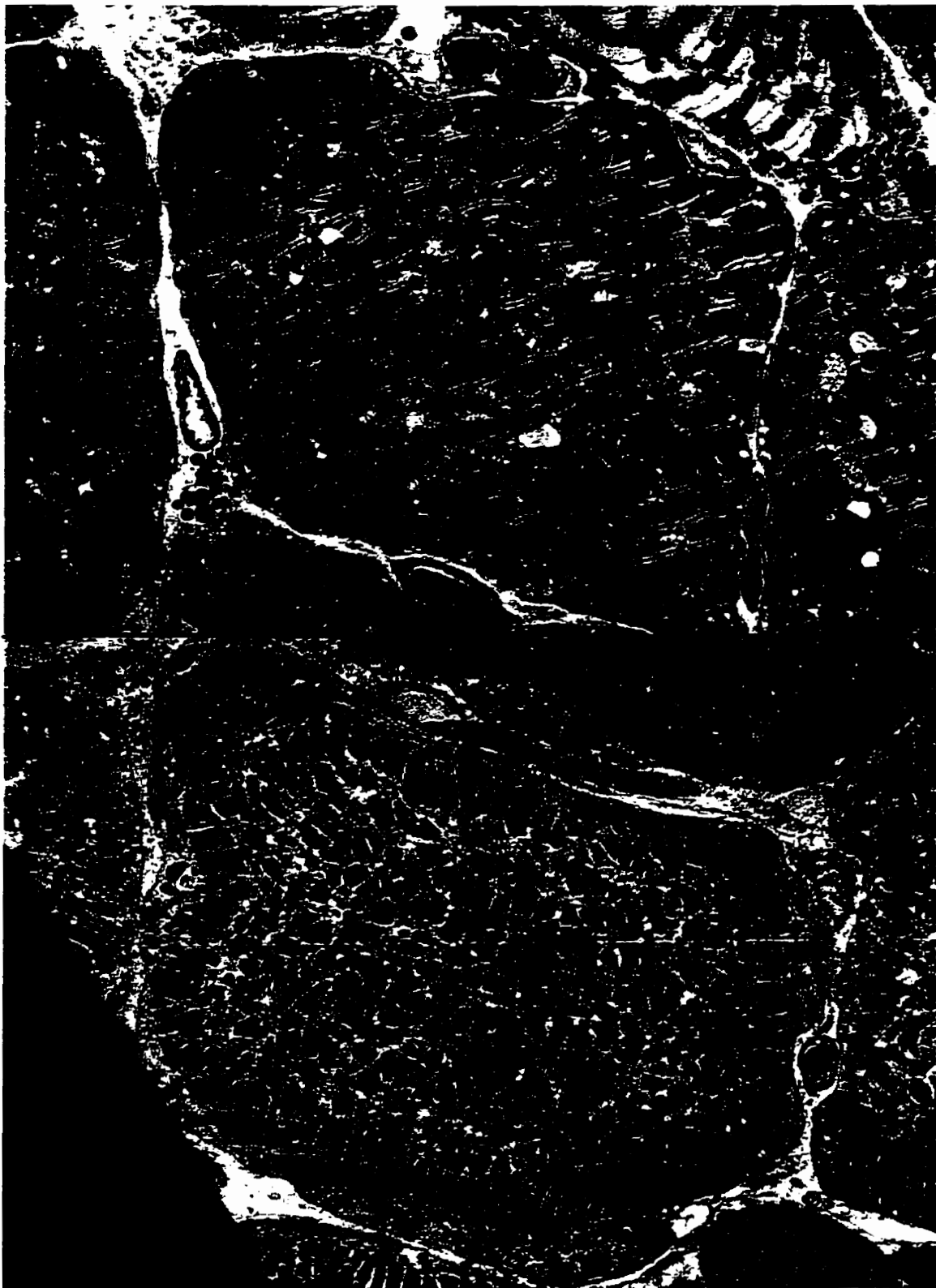


FIGURE 2. Micrographies représentatives de fibres musculaires rouges de truites arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*, acclimatées aux conditions hivernales (1) et estivales (2). M, mitochondries; m, myofibrilles; L, lipides. L'échelle indique 5 μm .

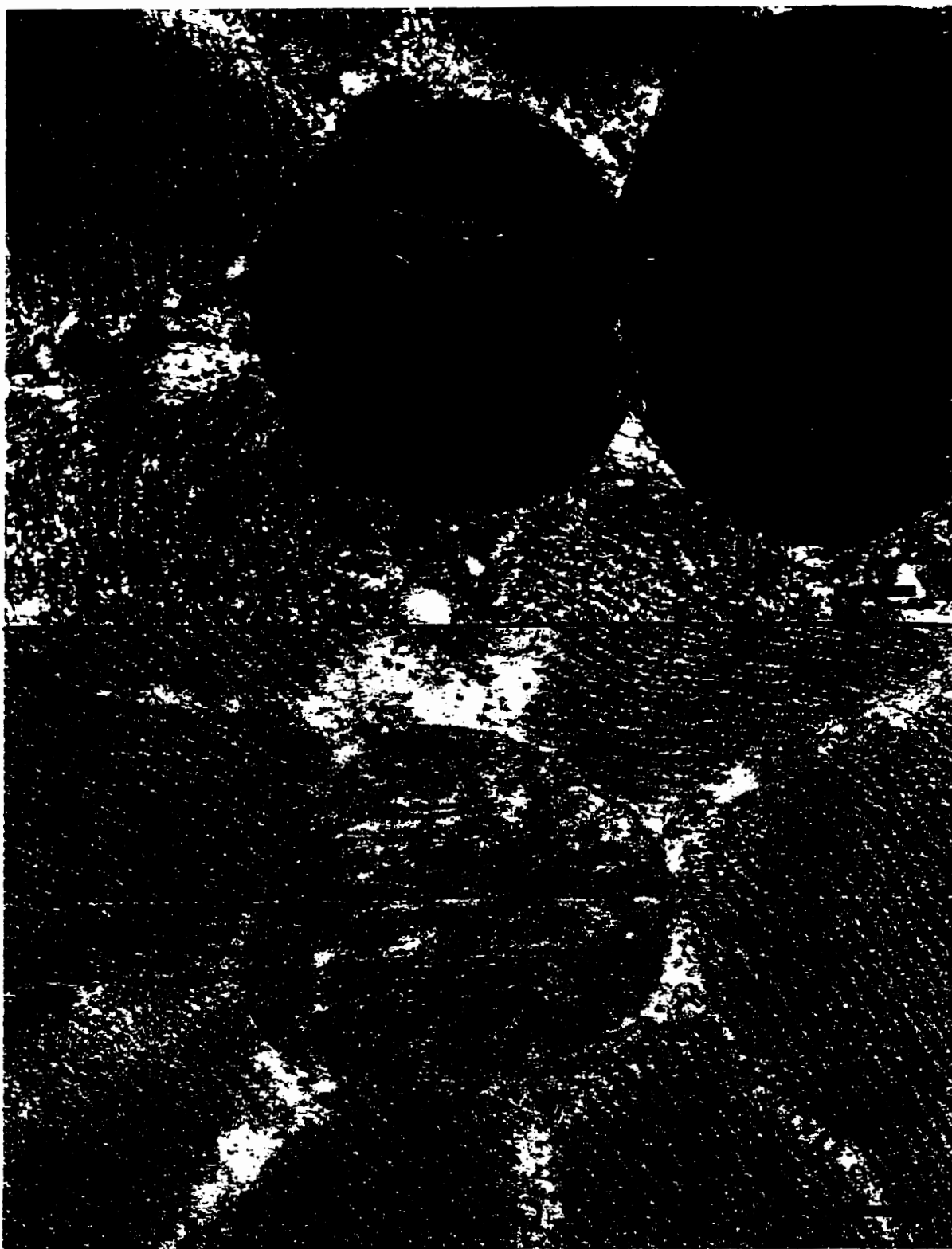


FIGURE 3. Micrographies représentatives de mitochondries intermyofibrillaires de fibres rouges de truites arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*, acclimatées aux conditions hivernales (1) et estivales (2). L'échelle indique 200 nm.

Discussion

Les propriétés des mitochondries isolées du muscle rouge de la truite arc-en-ciel ont été grandement modifiées lors de l'acclimatisation au froid. Cependant, ces changements n'étaient pas accompagnés d'une augmentation de la fraction volumique mitochondriale. Ainsi, les changements des propriétés intrinsèques des mitochondries chez la truite semblent suffisants pour permettre une capacité aérobie adéquate, même lors des extrêmes de température que la truite rencontre.

L'acclimatisation au froid chez la truite a amené une compensation partielle des capacités d'oxydation maximale des mitochondries pour le pyruvate et le palmitoyl carnitine. Les mitochondries des truites d'été possèdent des capacités d'oxydation maximale (natome O/min/mg protéine mitochondriale) plus élevées que celles des truites d'hiver lorsque mesurées à leur température d'habitat respective, soit 16 et 1°C. Cependant, étant donné la plus grande concentration de protéines mitochondriales dans le muscle rouge des truites d'hiver, la capacité aérobie du muscle rouge (natome O/min/g tissu) des truites d'hiver serait comparable à celle des truites d'été lorsque mesurée à leur température d'habitat respective. L'étude de Guderley *et al.* (sous presse) a également montré que les mitochondries isolées du muscle rouge des truites arc-en-ciel acclimatisées aux conditions automnales possédaient des capacités oxydatives maximales pour le pyruvate et le palmitoyl carnitine plus élevées que celles des truites acclimatisées aux conditions estivales. Cependant, l'extrapolation de ces taux d'oxydation à la température d'habitat respective des deux groupes de truites suggère une compensation complète. Les différences dans les degrés de compensation notées entre les études pourraient s'expliquer, en partie, par le faible écart de température (4°C) entre les deux groupes de poissons dans l'étude de Guderley *et al.* (sous presse). De plus, la compensation importante démontrée par les mitochondries des truites d'automne pourrait refléter une compensation anticipatoire en prévision des périodes plus froides à venir.

Les taux d'oxydation maximale des mitochondries sont déterminés majoritairement par le transporteur des adénylates et la cytochrome C oxydase (Groen *et al.*, 1982). La composition

lipidique des membranes de la truite se modifie rapidement face à des changements thermiques (Hazel et Williams, 1990; Williams et Hazel, 1995; Miranda et Hazel, 1996; Guderley *et al.*, sous presse). Ces modifications pourraient permettre des capacités d'oxydation maximale plus élevées au froid en modifiant l'activité du transporteur des adénylates et celle de l'enzyme membranaire (CCO). En effet, la composition lipidique des mitochondries des poissons rouges acclimatés au froid permet une plus grande activité de la succinate déshydrogénase que celle des poissons acclimatés au chaud (Hazel, 1972). Aussi, les changements de composition lipidique des membranes de carpes acclimatées au froid expliqueraient la plus grande activité spécifique de la cytochrome C oxydase chez ces poissons comparativement à ceux acclimatés au chaud (Wodtke, 1981b). Chez les truites d'hiver, la plus grande quantité relative de cytochrome C oxydase dans un milligramme de protéine mitochondriale, indiquée par nos études enzymatiques des culots de mitochondries et nos analyses ultrastructurales des mitochondries, pourrait également contribuer significativement à la hausse de capacité oxydative maximale des mitochondries au froid.

D'autres études ont montré des modifications des propriétés fonctionnelles des mitochondries lors de l'acclimatation thermique, mais, jusqu'à date, une augmentation de la densité de surface des crêtes des mitochondries a été notée seulement chez la truite arc-en-ciel. Les capacités d'oxydation des mitochondries (nmoles O/min/mg protéine mitochondriale) du crapaud de mer sont plus élevées chez les poissons acclimatés au froid que chez ceux acclimatés au chaud (Guderley et Johnston, 1996). On ne connaît pas précisément les mécanismes qui sont à la base de cette observation, quoique l'énergie d'activation pour l'oxydation du pyruvate soit réduite chez les crapauds de mer acclimatés au froid (Guderley et Johnston, 1996). L'acclimatation au froid chez le poisson rouge modifie la température de transition de la respiration mitochondriale, la nature du graphique d'Arrhenius et la composition en phospholipides des mitochondries musculaires, et augmente le taux de respiration mitochondriale par gramme de muscle (Van den Thillart et Modderkolk, 1978; Van den Thillart et De Bruin, 1981). Chez cette espèce, il y a une augmentation de la fraction volumique mitochondriale au froid, sans que la densité des crêtes des mitochondries soit modifiée (Tyler et Sidell, 1984). Ainsi, chez le poisson doré acclimaté au froid, des changements qualitatifs et

quantitatifs des mitochondries contribueraient à l'augmentation du taux de respiration mitochondriale par gramme de muscle. Par contre, l'acclimatation au froid à long terme chez le bar (*Dicentrarchus labrax*) diminue le taux d'oxydation maximale du glutamate par les mitochondries du foie et du coeur, lorsque mesuré à 20°C (Trigari *et al.*, 1992). Cependant, il n'y a pas une augmentation du degré d'insaturation des lipides membranaires au froid chez cette espèce.

Les résultats combinés de nos études enzymatiques aux niveaux tissulaire et mitochondrial ne suggéraient pas de changements dans l'abondance des mitochondries chez les truites acclimatées aux conditions hivernales. En effet, l'augmentation du niveau des enzymes mitochondriales (CCO, CS et CPT) dans le muscle des truites d'hiver peut s'expliquer par un accroissement de la quantité relative de ces enzymes à l'intérieur des mitochondries et non par une augmentation de la fraction volumique mitochondriale. Cet accroissement du niveau des enzymes aérobies chez les truites d'hiver leur a permis d'avoir des activités de CCO, CPT et CS similaires aux truites d'été, lorsque mesurées à leur température d'habitat respective. Il est également possible que des formes différentes des enzymes mitochondriales soient présentes chez les truites d'hiver. Moon et Hochachka (1971) ont montré que le patron d'expression de l'isocitrate déshydrogénase dans le foie de la truite arc-en-ciel changeait durant l'acclimatation thermique. On observe chez plusieurs espèces de poissons, dont le bar rayé et le poisson rouge, une augmentation des activités des enzymes mitochondriales au froid (articles de revue: Sidell, 1983; Sānger, 1993). Cette augmentation des activités enzymatiques semble refléter principalement un accroissement de la population mitochondriale au froid (Tyler et Sidell, 1984; Egginton et Sidell, 1989). L'acclimatation au froid chez le grand corégone et la truite arc-en-ciel n'a pas augmenté les activités des enzymes du métabolisme aérobie (Blier et Guderley, 1988; Guderley et Gawlicka, 1992), bien que Milanesi et Bird (1972) aient observé une hausse de l'activité de la CCO suite à l'acclimatation thermique de la truite arc-en-ciel. L'étude de Thibault *et al.* (1997) a montré que l'activité des enzymes mitochondriales du muscle rouge de la truite arc-en-ciel mesurée à la température de l'habitat augmentait au cours des saisons chaudes et diminuait au cours des saisons froides. La variabilité du degré de réponse à l'acclimatation thermique obtenue chez la truite arc-en-ciel pourrait s'expliquer par

des différences au niveau des souches de truites, des méthodes d'homogénéisation tissulaire et des indices de condition des poissons. Néanmoins, nos résultats démontrent que même lorsque l'acclimatation au froid amène une augmentation de la capacité aérobie tissulaire, cette dernière se produit surtout via une modification des propriétés mitochondriales intrinsèques et non de la fraction volumique mitochondriale.

Une augmentation de la fraction volumique lipidique à l'intérieur des fibres musculaires a souvent été observée chez les poissons acclimatés/acclimatisés au froid (cette étude; Egginton et Sidell, 1989; Sanger *et al.*, 1990). Ceci pourrait accélérer le flux d'oxygène et apporter un meilleur emmagasinage d'oxygène dans la musculature, car l'oxygène a une plus grande solubilité dans les lipides que dans l'eau, bien que son coefficient de diffusion est le même pour les deux compartiments (Egginton et Sidell, 1989). La proportion plus élevée de lipides dans la musculature des poissons au froid pourrait également indiquer une grande demande pour l'oxydation des lipides. En effet, le muscle rouge de la truite arc-en-ciel et celui du bar rayé oxydent plus rapidement le palmitate quand l'animal est acclimaté au froid qu'au chaud (Dean, 1969; Jones et Sidell, 1982).

Les modifications quantitative et qualitative des mitochondries dans les fibres musculaires face aux changements thermiques peuvent varier entre les espèces étudiées, entre l'acclimatation et l'acclimatisation pour une même espèce et entre des périodes d'acclimatation de différentes durées pour une même espèce. Les études d'acclimatation au froid ont montré une augmentation de la fraction volumique mitochondriale dans la musculature du bar rayé, de la carpe et du poisson rouge (Egginton et Sidell, 1989; Johnston et Maitland 1980; Tyler et Sidell, 1984). Par contre, l'acclimatisation saisonnière au froid chez la truite arc-en-ciel, le gardon et la carpe n'a pas amené une augmentation de la fraction volumique mitochondriale dans les fibres rouges (cette étude; Sanger *et al.*, 1990; Kilarski *et al.*, 1996). Lors de l'acclimatation au froid du poisson rouge et du bar rayé et de l'acclimatisation au froid de la carpe, il n'y a pas une augmentation de la densité de surface des crêtes des mitochondries du muscle rouge (Tyler et Sidell, 1984; Egginton et Sidell, 1989; Kilarski *et al.*, 1996). Cependant, le bar rayé montre une tendance vers une augmentation de la densité de surface des crêtes des

mitochondries lors de l'acclimatation au froid ($51,8 \pm 1,8 \mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$ versus $46,9 \pm 1,4 \mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$ à 5°C et 25°C respectivement; Egginton et Sidell, 1989). La présente étude a démontré une augmentation de la densité de surface des crêtes des mitochondries dans le muscle rouge des truites acclimatées au froid. De plus, l'acclimatation au froid durant six semaines de carpes acclimatées aux conditions estivales amène une augmentation de la densité de surface des crêtes des mitochondries, mais non de la fraction volumique des mitochondries, dans les fibres rouges (Kilariski *et al.*, 1996). Ainsi, différentes stratégies semblent être exploitées par les poissons afin de faire face aux changements thermiques. La présente étude a montré que des changements qualitatifs des mitochondries suffisent à assurer une compensation thermique importante. De plus, une étude à plusieurs niveaux d'organisation biologique est nécessaire afin de déterminer l'importance relative des changements quantitatifs et qualitatifs dans l'augmentation de la capacité aérobie au froid.

Lors de la spécialisation pour la vie dans un environnement constamment froid, l'augmentation de la capacité aérobie musculaire semble s'être effectuée principalement par une augmentation de la fraction volumique mitochondriale (Johnston *et al.*, 1988) En effet, la sensibilité thermique des mitochondries semblent s'être peu altérée au cours de l'évolution (Johnston *et al.*, 1994; Guderley et St-Pierre, 1996). Ainsi, la stratégie de modifier les propriétés intrinsèques des mitochondries afin d'augmenter la capacité aérobie ne semble pas avoir été la base de l'augmentation de la capacité aérobie chez les poissons Antarctiques. Deux explications peuvent être suggérées afin de mieux comprendre ceci. Premièrement, l'augmentation des capacités oxydatives des mitochondries individuelles peut amener des conséquences négatives à d'autres niveaux, comme le montre la diminution de l'affinité des mitochondries du crapaud de mer pour l'ADP à une température élevée (Guderley et Johnston, 1996). Deuxièmement, lors de la spécialisation pour la vie dans un environnement constamment froid, la sélection pourrait ne pas s'être effectuée au niveau des capacités oxydatives maximales des mitochondries. Cependant, les changements importants des propriétés mitochondriales observés lors de l'acclimatation/acclimatisation thermique suggèrent que des contraintes distinctes opèrent lors de ces réponses à plus court terme.

Chapitre III

Conclusion générale

Jusqu'à ce jour, une grande emphase dans la littérature scientifique a été mise sur les modifications quantitatives du muscle des poissons face à une exposition au froid, que ce soit lors d'études d'acclimatation/acclimatisation ou lors de la spécialisation pour la vie dans un environnement constamment froid. En effet, l'augmentation de la capacité aérobie musculaire des poissons au froid semble souvent pouvoir s'expliquer par une augmentation de la fraction volumique mitochondriale. Néanmoins, des modifications des propriétés intrinsèques des mitochondries peuvent expliquer, à un niveau plus ou moins élevé selon les espèces, l'augmentation de la capacité aérobie musculaire des poissons au froid.

Parmi les modifications des propriétés mitochondriales qui peuvent contribuer à augmenter la capacité aérobie musculaire au froid, on retrouve une augmentation de la fluidité membranaire mitochondriale, une augmentation de la concentration des enzymes à l'intérieur des mitochondries individuelles et une hausse de la densité de surface des crêtes des mitochondries. Une augmentation de la fluidité membranaire au froid se manifeste chez beaucoup d'espèces de poissons et peut augmenter l'activité des enzymes et des transporteurs membranaires mitochondriaux (revue: Hazel et Williams, 1990). En effet, pour une même concentration de CCO à l'intérieur des mitochondries, l'augmentation de la fluidité membranaire au froid peut permettre une hausse de l'activité de cette enzyme de 37% (Wodtke, 1981). Des espèces de poissons vivant à des températures très différentes possèdent une fluidité membranaire similaire à leur température d'habitat respective (revue: Hazel et Williams, 1990). Ceci indique une compensation complète de la fluidité membranaire lors de la spécialisation pour la vie dans un environnement constamment froid. Cependant, aucune étude n'a regardé spécifiquement la composition lipidique membranaire des mitochondries des poissons Antarctiques. Peu d'études ont regardé les effets de l'acclimatation/acclimatisation sur la densité de surface des crêtes des mitochondries. Cependant, le bar rayé montre une tendance vers une augmentation de la densité de surface des crêtes des mitochondries au froid (Egginton et Sidell, 1989). En ce qui concerne l'augmentation de la concentration des enzymes du métabolisme aérobie à l'intérieur des mitochondries au froid, ce phénomène s'expliquerait par des effets différents de la température sur les constantes de synthèse et de dégradation des enzymes (Sidell, 1977). L'ensemble de ces résultats suggère que l'augmentation de la capacité

aérobie musculaire que l'on observe au froid chez plusieurs espèces de poissons serait plus élevée que ce qui est indiqué par l'augmentation de la fraction volumique mitochondriale.

Notre étude a montré que des changements des propriétés intrinsèques des mitochondries pouvaient suffir à expliquer l'augmentation de la capacité aérobie musculaire au froid chez la truite arc-en-ciel. En effet, l'augmentation de la capacité aérobie musculaire lors de l'acclimatation au froid chez la truite peut s'expliquer par un accroissement de la densité de surface des crêtes des mitochondries et une hausse de la concentration relative des enzymes du métabolisme aérobie à l'intérieur des mitochondries. De plus, les modifications de la composition lipidique membranaire des mitochondries lors de l'acclimatation au froid chez la truite arc-en-ciel (Guderley *et al.*, sous presse) pourraient expliquer, en partie, la plus grande compensation de l'activité des enzymes membranaires (CCO et CPT) comparativement à celle de l'enzyme matricielle (CS). L'importance relative des changements quantitatifs et qualitatifs dans l'accroissement de la capacité aérobie musculaire au froid peut varier entre les différentes espèces de poissons étudiées. Le présent travail devrait stimuler l'emploi d'une approche expérimentale à plusieurs niveaux d'organisation biologique, ce qui permettra d'évaluer adéquatement la contribution de la plasticité phénotypique des mitochondries dans l'augmentation de la capacité aérobie musculaire au froid.

Références

- Archer, S.D. & Johnston, I.A. (1991). Density of cristae and distribution of mitochondria in the slow muscle fibers of Antarctic fish. *Physiological Zoology* **64**, 242-258.
- Ball, D. & Johnston, I.A. (1996). Molecular mechanisms underlying the plasticity of muscle contractile properties with temperature acclimation in the marine fish *Myoxocephalus scorpius*. *Journal of Experimental Biology* **199**, 1363-1373.
- Ballantyne, J.S., Flannigan, D. & White, T.B. (1989). Effects of temperature on the oxidation of fatty acids, acyl carnitines and ketone bodies by mitochondria isolated from the liver of the lake charr, *Salvelinus namaycush*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **46**, 950-954.
- Ballantyne, J.S., Chamberlin, M.E. & Singer, T.D. (1992). Oxidative metabolism in thermogenic tissues of the swordfish and mako shark. *Journal of Experimental Zoology* **261**, 110-114.
- Barton, K.N., Gerrits, M.F. & Ballantyne, J.S. (1995). Effects of exercise on plasma nonesterified fatty acids and free amino acids in arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Journal of Experimental Zoology* **271**, 183-189.
- Beamish, F.W.H. (1978). Swimming capacity. In *Fish Physiology*. Volume 7. Edited par W.S. Hoar et D. J. Randall. Academic Press, New-York. pp. 107-187.
- Beddow, T.A., Van Leeuwen, J.L. & Johnston, I.A. (1995). Swimming kinematics of fast starts are altered by temperature acclimation in the marine fish *Myoxocephalus scorpius*. *The Journal of Experimental Biology* **198**, 203-208.
- Beddow, T.A. & Johnston, I.A. (1995). Plasticity of muscle contractile properties following temperature acclimation in the marine fish *Myoxocephalus scorpius*. *Journal of Experimental Biology* **198**, 193-201.

Blier, P.U. & Guderley, H.E. (1988). Metabolic responses to cold acclimation in the swimming musculature of lake whitefish, *Coregonus clupeaformis*. *Journal of Experimental Zoology* **246**, 244-252.

Blier, P.U. & Guderley, H.E. (1993a). Effects of pH and temperature on the kinetics of pyruvate oxidation by muscle mitochondria from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Physiological Zoology* **66**, 474-489.

Blier, P.U. & Guderley, H.E. (1993b). Mitochondrial activity in rainbow trout red muscle: the effect of temperature on the ADP-dependence of ATP synthesis. *Journal of Experimental Biology* **176**, 145-157.

Brand, M.D. (1994). The stoichiometry of proton pumping and ATP synthesis in mitochondria. *The Biochemist* **16**, 20-25.

Brett, J.R. (1964). The respiratory metabolism and swimming performance of young sockeye salmon. *Journal of Fisheries Research Board, Canada* **21**, 1183-1226.

Cai, Y.J. & Adelman, I.R. (1990). Temperature acclimation in respiratory and cytochrome c oxidase activity in common carp (*Cyprinus carpio*). *Comparative Biochemistry and Physiology A* **95**, 139-144.

Chamberlin, M.E. & Ballantyne, J.S. (1992). Glutamine metabolism in elasmobranch and agnathan muscle. *Journal of Experimental Zoology* **264**, 267-272.

Crockett, E.L. & Sidell, B.D. (1990). Some pathways of energy metabolism are cold adapted in Antarctic fishes. *Physiological Zoology* **63**, 472-488.

Crockett, E.L. & Sidell, B.D. (1993). Peroxisomal β -oxidation is a significant pathway for catabolism of fatty acids in a marine teleost. *American Journal of Physiology* **264**, (Regulatory, Integrative and Comparative Physiology **33**), R1004-R1009.

Crockett, E.L. & Hazel, J.R. (1995). Cholesterol levels explain inverse compensation of membrane order in brush border but not homeoviscous adaptation in basolateral membranes from intestinal epithelia of rainbow trout. *Journal of Experimental Biology* **198**, 1105-1113.

Crockford, T., Johnston, I.A. & McAndrew, B.J. (1995). Functionally significant allelic variation in myosin light chain composition in a tropical cichlid. *Journal of Experimental Biology* **198**, 2501-2508.

Dahloff, E., O'Brien, J., Somero, G.N. & Vetter, R.D. (1991). Temperature effects on mitochondria from hydrothermal vent invertebrates: evidence for adaptation to elevated and variable habitat temperature. *Physiological Zoology* **64**, 1490-1508.

Davie, P.S., Wells, R.M.G. & Tetens, V. (1986). Effects of sustained swimming on rainbow trout muscle structure, blood oxygen transport, and lactate dehydrogenase isozymes: evidence for increased aerobic capacity of white muscle. *Journal of Experimental Zoology* **237**, 159-171.

Davison, W., & Goldspink, G. (1977). The effect of prolonged exercise on the lateral musculature of the brown trout (*Salmo trutta*). *Journal of Experimental Biology* **70**, 1-12.

Dean, J.M. (1969). The metabolism of tissues of thermally acclimated trout (*Salmo gairdneri*). *Comparative Biochemistry and Physiology* **29**, 185-196.

Dudley, G. A., Tullson, P.C. & Terjung, R.L. (1987). Influence of mitochondrial content on the sensitivity of respiratory control. *Journal of Biological Chemistry* **262**, 9109-9114.

Egginton, S. & Sidell, B.D. (1989). Thermal acclimation induces adaptative changes in subcellular structure of fish skeletal muscle. *American Journal of Physiology* **256**, (*Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **25**), R1-R9.

Fitch, N.A., Johnston, I.A. & Wood, R.E. (1984). Skeletal muscle capillary supply in a fish that lacks respiratory pigments. *Respiratory Physiology* **57**, 201-211.

Fry, F.E.J., & Hart, J.S. (1948). Cruising speed of goldfish in relation to water temperature. *Journal of Fisheries Research Board, Canada* **7**, 169-175.

Geiser, F. (1990). Influence of polyunsaturated and saturated dietary lipids on adipose tissue, brain, and mitochondrial membrane fatty acid composition of a mammalian hibernator. *Biochimica Biophysica Acta* **1046**, 159-166.

Gerlach, G.F., Turay, L., Malik, K.T.A., Lida, J., Scutt, A. & Goldspink, G. (1990). Mechanisms of temperature acclimation in the carp: a molecular biology approach. *American Journal of Physiology* **259**, (*Regulatory, Integrative and comparative Physiology* **28**), R237-R244.

Goldspink, G. (1995). Adaptations of fish to different environmental temperature by qualitative and quantitative changes in gene expression. *Journal of Thermal Biology* **20** (1/2), 167-174.

Goolish, E.M. & Adelman, I.R. (1987). Tissue-specific cytochrome oxidase activity in largemouth bass: the metabolic costs of feeding and growth. *Physiological Zoology* **60** (4), 454-464.

Groen, A.K., Wanders, R.J.A., Westerhoff, H.V., van der Meer, R. & Tager, J.M. (1982). Quantification of the contribution of various steps to the control of mitochondrial respiration. *Journal of Biological Chemistry* **257** (6), 2754-2757.

Guderley, H. (1990). Functional significance of metabolic responses to thermal acclimation in fish muscle. *American Journal of Physiology* **259**, (*Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **28**), R245-R252.

Guderley, H. & Gawlicka, A. (1992). Qualitative modification of muscle metabolic organization with thermal acclimation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiology and Biochemistry* **10** (2), 123-132.

Guderley, H.E., Rojas, F.M. & Nusetti, O.A. (1995). Metabolic specialization of mitochondria from scallop phasic muscles. *Marine Biology* **122**, 409-416.

Guderley, H. E., St-Pierre, J., Couture, P. & Hulbert, A. J. Seasonal plasticity of the properties of mitochondria from rainbow trout red muscle. *Fish Physiology and Biochemistry*, sous presse.

Guderley, H.E. & St-Pierre, J. (1996). Thermal adaptations of mitochondria. In *Animals and temperature (Phenotypic and evolutionary adaptation)*, SEB Seminar series 59. Edité par I.A. Johnston & A.F. Bennett. London: Cambridge University Press. pp. 127-152.

Guderley, H.E. & Johnston, I.A. (1996). Plasticity of fish muscle mitochondria with thermal acclimation. *Journal of Experimental Biology* **199**, 1311-1317.

Guderley, H.E., Dutil, J.-D., Pelletier, D (1996). The physiological status of Atlantic cod, *Gadus morhua*, in the wild and the laboratory: estimates of growth rates under field conditions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **53**, 550-557.

Hazel, J.R. (1972). The effect of temperature acclimation upon succinic dehydrogenase activity from the epaxial muscle of the common goldfish (*Carassius auratus* L.). I. Properties of the enzyme and the effect of lipid extraction. *Comparative Biochemistry and Physiology* **43B**, 837-861.

Hazel, J.R. & Prosser, C.L. (1974). Molecular mechanisms of temperature compensation in poikilotherms. *Physiological Reviews* **54**, 620-677.

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**, 167-227.

Hazel, J.R., McKinley, S.J. & Williams, E.E. (1992). Thermal adaptation in biological membranes: interacting effects of temperature and pH. *Journal of Comparative Physiology B* **162**, 593-601.

Heap, S.P., Watt, P.W. & Goldspink, G. (1985). Consequences of thermal change on the myofibrillar ATPase of five freshwater teleosts. *Journal of Fish Biology* **26**, 733-738.

Heap, S.P., Watt, P.W. & Goldspink, G. (1986). Myofibrillar ATPase activity in the carp *Cyprinus carpio*: interactions between starvation and environmental temperature. *Journal of Experimental Biology* **123**, 373-382.

Hochachka, P.W. & Somero, G.N. (1984). Biochemical adaptation. Princeton, New-Jersey: Princeton University Press.

Hodges, T.K. & Leonard, R.T. (1974). Purification of plasma membrane bound adenosine triphosphatase from plant roots. *Methods in Enzymology* **22**, 392-406.

Holloszy, J.O. & Coyle, E.F. (1984). Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental, and Exercise Physiology* **56**, 831-838.

Hubley, M.J., Locke, B.R. & Moerland, T.S. (1997). Reaction-diffusion analysis of the effects of temperature on high-energy phosphate dynamics in goldfish skeletal muscle. *Journal of Experimental Biology* **200**, 975-988.

James, N. & Meek, G. (1979). Stereological analyses of the structure of mitochondria in pigeon skeletal muscle. *Cell Tissue Research* **202**, 493-503.

Jayne, B.C. & Lauder, G.V. (1994). How swimming fish use slow and fast muscle fibers: implications for models of vertebrate muscle recruitment. *Journal of Comparative Physiology A* **175**, 123-131.

Johnson, T.P. & Bennett, A.F. (1995). The thermal acclimation of burst escape performance in fish: an integrated study of molecular and cellular physiology and organismal performance. *Journal of Experimental Biology* **198**, 2165-2175.

Johnson, T.P., Bennett, A.F. & McLister, J.D. (1996). Thermal dependence and acclimation of fast start locomotion and its physiological basis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Physiological Zoology* **69** (2), 276-292.

Johnston, I.A. & Lucking, M. (1978). Temperature induced variation in the distribution of different types of muscle fiber in the goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Comparative Physiology* **124**, 111-116.

Johnston, I.A. & Moon, T.W. (1980). Exercise training in skeletal muscle of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Journal of Experimental Biology* **87**, 177-194.

Johnston, I.A. & Maitland, B. (1980). Temperature acclimation in crucian carp (*Carassius carassius* L.): morphometric analysis of muscle fibre ultrastructure. *Journal of Fish Biology* **17**, 113-125.

- Johnston, I.A. (1981). Structure and function of fish muscles. *Symposia. Zoological Society of London* **48**, 71-113.
- Johnston, I.A. & Harrison, P. (1985). Contractile and metabolic characteristics of muscle fibres from Antarctic fish. *Journal of Experimental Biology* **116**, 223-236.
- Johnston, I.A., Sidell, B.D. & Driedzic, W.R. (1985). Force-velocity characteristics and metabolism of carp muscle fibres following temperature acclimation. *Journal of Experimental Biology* **119**, 239-249.
- Johnston, I.A. & Wokoma, A. (1986). Effects of temperature and thermal acclimation of contractile properties and metabolism of skeletal muscle in the flounder (*Platichthys flesus* L.). *Journal of Experimental Biology* **120**, 119-130.
- Johnston, I.A. (1987). Respiratory characteristics of muscle fibers in a fish (*Chaenocephalus aceratus*) that lacks respiratory pigments. *Journal of Experimental Biology* **133**, 415-428.
- Johnston, I.A., Camm, J.-P. & White, M. (1988). Specialisations of swimming muscles in the pelagic Antarctic fish *Pleuragramma antarcticum*. *Marine Biology* **100**, 3-12.
- Johnston, I.A., Fleming, J.D. & Crockford, T. (1990). Thermal acclimation and muscle contractile properties in cyprinid fish. *American Journal of Physiology* **259**, R231-R236.
- Johnston, I.A. (1993). Phenotypic plasticity of fish muscle to temperature change. In *Fish Ecophysiology*. Edited par J. Cliff et F.B. Jensen. Chapman et Hall, London. pp. 322-340.
- Johnston, I.A., Guderley, H.E., Franklin, C.E., Crockford, T. & Kamunde, C. (1994). Are mitochondria subject to evolutionary temperature adaptation? *Journal of Experimental Biology* **195**, 293-306.

Jones, P.L. & Sidell, B.D. (1982). Metabolic responses of striped bass (*Morone saxatilis*) to temperature acclimation. II. Alterations in metabolic carbon sources and distributions of fiber types in locomotory muscle. *The Journal of Experimental Zoology* **219**, 163-171.

Kemp, A., Groot, Jr., G.S.P & Reitsma, H.J. (1969). Oxidative phosphorylation as a function of temperature. *Biochimica Biophysica Acta* **180**, 24-34.

Kiessling, A., Johansson, L. & Storebakken, T. (1989). Effects of reduced feed ration levels on fat content and fatty acid composition in white and red muscle from rainbow trout. *Aquaculture* **79**, 169-175.

Kiessling, A., Kiessling, K.H., Storebakken, T. & Adsgard, T. (1991). Change in the structure and function of the epaxial muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to ration and age. II. Activity of key enzymes in energy metabolism. *Aquaculture* **93**, 357-372.

Kiessling, K.H., & Kiessling, A. (1993). Selective utilization of fatty acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Canadian Journal of Zoology* **71**, 248-251.

Kiessling, A., Hung, S.S.O. & Storebakken, T. (1993). Differences in protein mobilization between ventral and dorsal parts of white epiaxial muscle from fed, fasted and refed white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Journal of Fish Biology* **43**, 401-408.

Kilarski, W.M., Romek, M., Kozłowska, M. & Görlich, A. (1996). Short-term thermal acclimation induces adaptative changes in their inner mitochondrial membranes of fish skeletal muscle. *Journal of Fish Biology* **49**, 1280-1290.

Klingenberg, M., Grebe, K. & Appel, M. (1982). Temperature dependence of ADP/ATP translocation in mitochondria. *European Journal of Biochemistry* **126**, 263-269.

Langfeld, K.S., Crockford, T. & Johnston, I.A. Temperature acclimation in the common carp: force-velocity characteristics and myosin subunit composition of slow muscle fibres. *Journal of Experimental Biology* **155**, 291-304.

Loughna, P.T. & Goldspink, G. (1984). The effects of starvation upon protein turnover in red and white myotomal muscle of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology* **25**, 223-230.

Loughna, P.T. & Goldspink, G. (1985). Muscle protein synthesis rates during temperature acclimation in a eurythermal (*Cyprinus carpio*) and a stenothermal (*Salmo gairdneri*) species of teleost. *Journal of Experimental Biology* **118**, 267-276.

Mathers, E.M., Houlihan, D.F. & Cunningham, M.J. (1992). Nucleic acid concentrations and enzyme activities as correlates of growth rate of the saithe *Pollachius virens*: growth-rate estimates of open-sea fish. *Marine Biology* (Berlin) **112**, 363-369.

McArdle, W.D., Katch, F.I. & Katch, V.L. (1986). Exercise physiology, energy, nutrition, and human performance. Deuxième édition. Philadelphia: Lea & Febiger.

Milanesi, A.A. & Bird, J.W.C. (1972). Lysosomal enzymes in aquatic species II. Distribution and particule properties of thermally acclimated muscle lysosomes of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Comparative Biochemistry and Physiology* **41B**, 573-591.

Miranda, E.J. & Hazel, J.R. (1996). Temperature-induced changes in the transbilayer distribution of phosphatidylethanolamine in mitoplasts of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver. *Journal of Experimental Zoology* **274**, 23-32.

Moerland, T.S. & Sidell, B.D. (1986). Biochemical responses to temperature in the contractile protein complex of striped bass *Morone saxatilis*. *Journal of Experimental Zoology* **238**, 287-295.

Moyes, C.D., Buck, L.T. & Hochachka, P.W. (1988). Temperature effects on pH of mitochondria isolated from carp red muscle. *American Journal of Physiology* **254** (*Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **23**), R611-R615.

Moyes, C.D., Buck, L.T., Hochachka, P.W. & Suarez, R.K. (1989). Oxidative properties of carp red and white muscle. *Journal of Experimental Biology* **143**, 321-331.

Moyes, C. D., Suarez, R. K., Hochachka, P. W. & Ballantyne, J. S. (1990). A comparison of fuel preferences of mitochondria from vertebrates and invertebrates. *Canadian Journal of Zoology* **68**, 1337-1349.

Moyes, C.D., Mathieu-Costello, O.A., Brill, R.W. & Hochachka, P.W. (1992). Mitochondrial metabolism of cardiac and skeletal muscles from a fast (*Katsuwonus pelamis*) and a slow (*Cyprinus carpio*) fish. *Canadian Journal of Zoology* **70**, 1246-1253.

O'Brien, J., Dahloff, E. & Somero, G.N. (1991). Thermal resistance of mitochondrial respiration: hydrophobic interactions of membrane proteins may limit thermal resistance. *Physiological Zoology* **64**, 1509-1526.

Pelletier, D., Guderley, H.E., Dutil, J.-D. (1993a). Effects of growth rate, temperature, season, and body size on glycolytic enzyme activities in the white muscle of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Journal of Experimental Zoology* **265**, 477-487.

Pelletier, D., Guderley, H.E., Dutil, J.-D. (1993b). Does the aerobic capacity of fish muscle change with growth rate? *Fish Physiology and Biochemistry* **12**, 83-93.

Pelletier, D., Dutil, J.-D., Blier, P., Guderley, H. (1994). Relation between growth rate and metabolic organization of white muscle, liver and digestive tract in cod, *Gadus morhua*. *Journal of Comparative Physiology B* **164**, 179-190.

Penney, R.K. & Goldspink, G. (1981). Short term temperature acclimation in myofibrillar ATPase of a stenotherm *Salmo gairdneri* Richardson and an eurytherm *Carassius auratus*. *Journal of Fish Biology* **18**, 715-721.

Pigliucci, M. (1996). How organisms respond to environmental changes: from phenotypes to molecules (and vice versa). *Trends in Ecology and Evolution* **11** (4), 168-173.

Precht, H., Christophersen, J., Hensel, H. & Larcher, W. (1973). Temperature and life. Berlin: Springer. p. 779.

Rodnick, K.J. & Sidell, B.D. (1994). Cold acclimation increases carnitine palmitoyl transferase 1 activity in oxidative muscle of striped bass. *American Journal of Physiology* **266**, (Regulatory, Integrative and Comparative Physiology **35**), R405-R412.

Rome, L.C., Loughna, P.T. & Goldspink, G. (1984). Muscle fiber activity in carp as a function of swimming speed and muscle temperature. *American Journal of Physiology* **247**, R272-R279.

Rome, L.C., Loughna, P.T. & Goldspink, G. (1985). Temperature acclimation: improved sustained swimming performance in carp at low temperature. *Science* **228**, 194-196.

Sänger, A.M., Kim, Z.S. & Adam, H. (1990). The fine structure of muscle fibres of roach, *Rutilus rutilus* (L.), and chub, *Leuciscus cephalus* (L.), Cyprinidae, Teleostei: interspecific differences and effects of habitat and season. *Journal of Fish Biology* **36**, 205-213.

Sänger, A.M. (1992). Effects of training on axial muscle of two cyprinid species: *Chondrostoma nasus* (L.) and *Leuciscus cephalus* (L.). *Journal of Fish Biology* **40**, 637-646.

Sänger, A.M. (1993). Limits to the acclimation of fish muscle. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **3**, 1-15.

Schurmann, J.F., Steffensen, J.F. & Lomholt, J.P. (1991). The influence of hypoxia on the preferred temperature of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Experimental Biology* 157, 75-86.

Scott, W.B. & Crossman, E.J. (1974). Poissons d'eau douce du Canada. Offices des Recherches sur les Pêcheries du Canada, Ottawa. Bulletin 184.

Shaklee, J.B., Christiansen, J.A., Sidell, B.D., Prosser, C.L. & Whitt, G.S. (1977). Molecular aspects of temperature acclimation in fish: contributions of changes in enzyme activities and isozyme patterns to metabolic reorganization in the green sunfish. *Journal of Experimental Biology* 201, 1-20.

Sidell, B.D. (1977). Turnover of cytochrome c in skeletal muscle of green sunfish (*Lepomis cyanellus* R.) during thermal acclimation. *Journal of Experimental Zoology* 199, 233-250.

Sidell, B.D. (1980). Response of goldfish (*Carassius auratus* L.) muscle to acclimation temperature: alterations in biochemistry and proportions of different fiber types. *Physiological Zoology* 53, 98-107.

Sidell, B.D., Johnston, I.A., Moerland, T.S. & Goldspink, G. (1983). The eurythermal myofibrillar protein complex of the mummichog (*Fundulus heteroclitus*): adaptation to a fluctuating thermal environment. *Journal of Comparative Physiology* 153, 167-173.

Sidell, B.D. (1983). Cellular acclimatization to environmental change by quantitative alterations in enzymes and organelles. In *Cellular Acclimatization to Environmental Change*. Edited par A.R. Cossins et P. Sheterline. Cambridge University Press, Cambridge, New-York. pp. 103-120.

Sidell, B.D. & Johnston, I.A. (1985). Thermal sensitivity of contractile function in chain pickerel, *Esox niger*. *Canadian Journal of Zoology* 63, 811-816.

- Smith, P.K., Krohn, R.I., Hermanson, G.T., Mallia, A.K., Gartner, F.H., Provenzano, M.D., Fujimoto, E.K., Goeke, N.M., Olson, B.J. & Klenk, D.C. (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry* **150**, 76-85.
- Somero, G.N. & Childress, J.J. (1990). Scaling of ATP-supplying enzymes, myofibrillar proteins and buffering capacity in fish muscle: relationship to locomotory habit. *Journal of Experimental Biology* **149**: 319-333.
- Sullivan, K.M. & Somero, G.N. (1983). Size- and diet-related variations in enzymic activity and tissue composition in the sablefish, *Anoplopoma fimbria*. *Biological Bulletin* **164**, 315-326.
- Taylor, S.E., Egginton, S. & Taylor, W. (1996). Seasonal temperature acclimatisation of rainbow trout: cardiovascular and morphometric influences on maximal sustainable exercise level. *Journal of Experimental Biology* **199**, 835-845.
- Thibault, M., Blier, P.U., Guderley, H.E. (1997). Seasonal variation of muscle metabolic organization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry* **16** (2), 139-155.
- Trigari, G., Pirini, M., Ventralla, V., Pagliarini, A., Trombetti, F. & Borgatti, A.R (1992). Lipid composition and mitochondrial respiration in warm- and cold-adapted sea bass. *Lipids* **27**, 371-377.
- Tyler, S. & Sidell, B.D. (1984). Changes in mitochondrial distribution and diffusion distances in muscle of goldfish upon acclimation to warm and cold temperatures. *Journal of Experimental Zoology* **232**, 1-9.
- Tyler, D.D. & Nathanailides, C. (1995). Assaying for maximal cytochrome C oxidase activity in fish muscle. *BAM* **5** (1), 99-102.

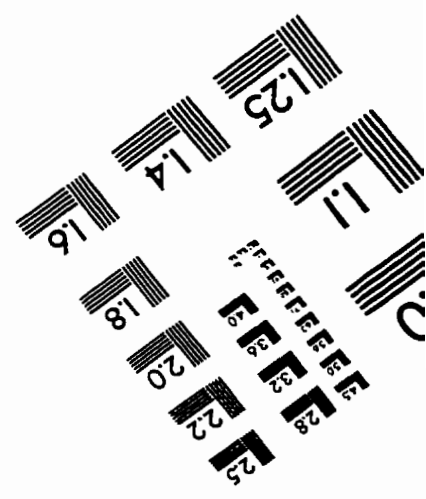
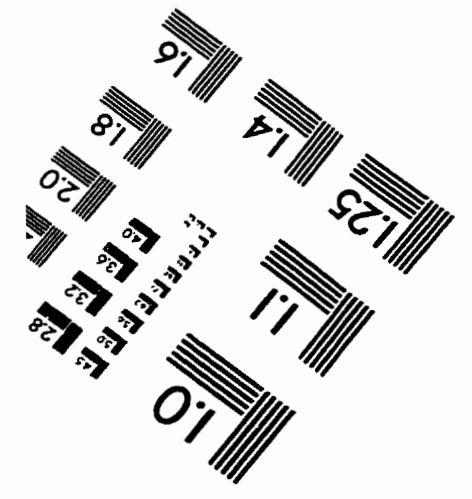
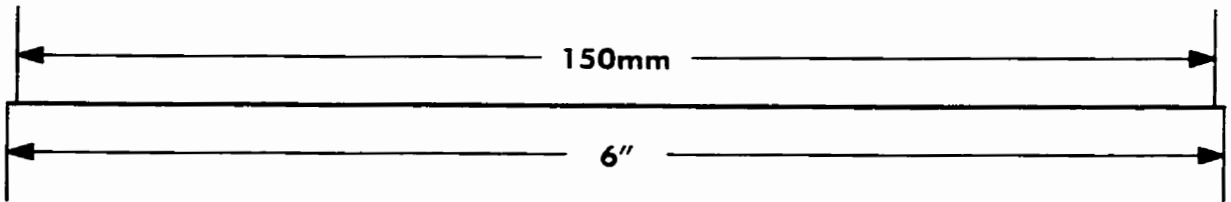
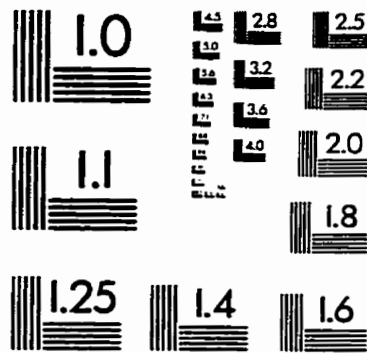
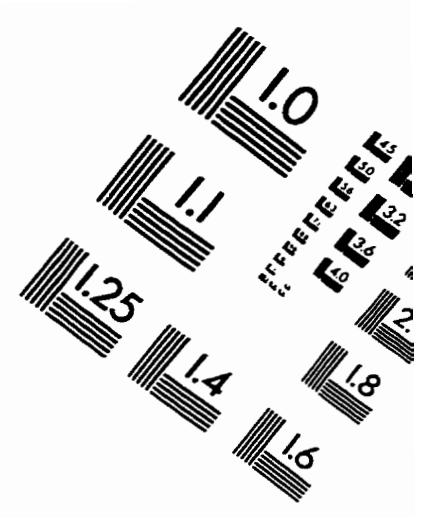
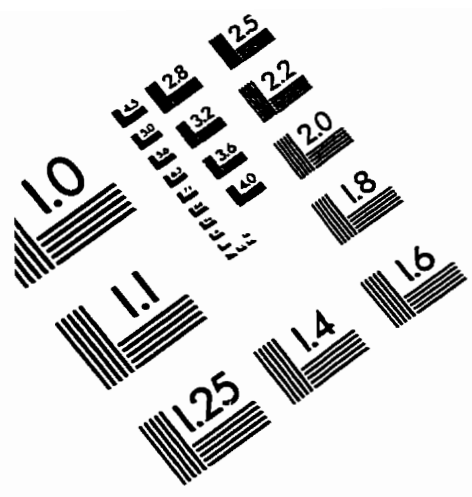
- Van den Thillart, G. & Modderkolk, J. (1978). The effect of acclimation temperature on the activation energy of state III respiration and on the unsaturation of membrane lipids of goldfish mitochondria. *Biochimica Biophysica Acta* **510**, 38-51.
- Van den Thillart, G. & De Bruin, G. (1981). Influence of environmental temperature on mitochondrial membranes. *Biochimica Biophysica Acta* **640**, 439-447.
- Van den Thillart, G. (1986). Energy metabolism of swimming trout (*Salmo gairdneri*) oxidation rates of palmitate, glucose, lactate, alanine, leucine and glutamate. *Journal of Comparative Physiology B* **156**, 511-520.
- Watabe, S., Guo, X.-F. & Hwang, G.-C. (1994). Carp express specific isoforms of the myosin cross-bridge head, subfragment-1, in association with cold and warm temperature acclimation. *Journal of Thermal Biology* **19** (4), 261-268.
- Webb, P.W. (1978). Hydrodynamique et énergétique de la propulsion des poissons. Bulletin de l'Office des Recherches sur les Pêcheries du Canada, Ottawa. Bulletin 190F.
- Weibel, E.R. (1979). Stereological methods. Volume I. Practical methods for biological morphometry. Academic Press, London.
- Williams, E.E. & Hazel, J.R. (1995). Restructuring of plasma membrane phospholipids in isolated hepatocytes of rainbow trout during brief in vitro cold exposure. *Journal of Comparative Physiology* **164**, 600-608.
- Wilmore, J.H. & Costill, D.L. (1994). Physiology of sport and exercise. Champaign: Human Kinetics. 549 p.
- Withers, P.C. (1992). Comparative animal physiology. Orlando: Saunders College Publishing. 949 p.

Wodtke, E. (1981a). Temperature adaptation of biological membranes. The effects of acclimation temperature on the unsaturation of the main neutral and charged phospholipids in mitochondrial membranes of the carp (*Cyprinus carpio*). *Biochimica Biophysica Acta* **640**, 698-709.

Wodtke, E. (1981b). Temperature adaptations of biological membranes. Compensation of the molar activity in the mitochondrial energy-transducing membrane during thermal acclimation of the carp (*Cyprinus carpio* L.). *Biochimica et Biophysica Acta* **640**, 710-720.

Zammit, V.A. & Newsholme, E.A. (1979). Activities of enzymes of fat and ketone-body metabolism and effects of starvation on blood concentrations of glucose and fat fuels in teleost and elasmobranch fish. *Biochemical Journal* **184**, 313-322.

TEST TARGET (QA-3)



APPLIED IMAGE, Inc
1653 East Main Street
Rochester, NY 14609 USA
Phone: 716/482-0300
Fax: 716/288-5989

© 1993, Applied Image, Inc., All Rights Reserved