

Effet combiné de la température et de la disponibilité en oméga 3 dans la nourriture sur la fonction cardio-respiratoire du mullet doré



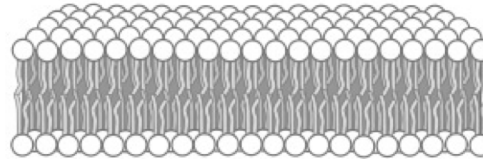
Marie VAGNER

E. Pante, A. Viricel, T. Lacoue-Labarthe, J.L. Zambonino, P. Quazuguel, E. Dubillot, V. Huet, H. Le Delliou, C. Lefrançois, N. Imbert-Auvray

N-3 long chain polyunsaturated fatty acids (HUFA n-3 ou omega 3):

Structural components of the cell membrane

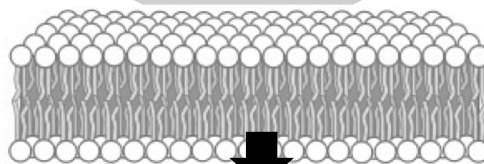
- **EPA** (ecosapentaenoic acid, 20:5n-3)
- **DHA** (docosahexaenoic acid, 22:6n-3)



N-3 long chain polyunsaturated fatty acids (HUFA n-3 ou omega 3):

Structural components of the cell membrane

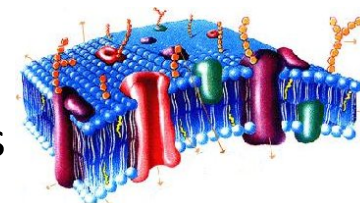
- **EPA** (ecosapentaenoic acid, 20:5n-3)
- **DHA** (docosahexaenoic acid, 22:6n-3)



Fluidité & perméabilité membranaire

Conformation & activité des protéines enchâssées

Développement & fonctions des cellules et tissus

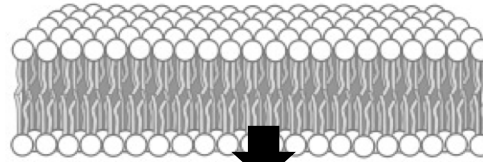


N-3 long chain polyunsaturated fatty acids (HUFA n-3 ou omega 3):

Structural components of the cell membrane

- **EPA** (ecosapentaenoic acid, 20:5n-3)

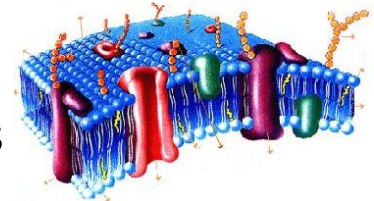
- **DHA** (docosahexaenoic acid, 22:6n-3)



Fluidité & perméabilité membranaire

Conformation & activité des protéines enchâssées

Développement & fonctions des cellules et tissus



Individu (fonct. Physio.: e.g. croissance, reproduction, métabolisme)

Population

Ecosystème (fitness, selection habitat, migration, trophic web,...)

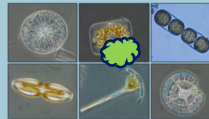
Bien qu'essentiels pour les fonctions vitales, HUFA n-3 faiblement synthétisés *de novo* chez les poissons marins

→ Doivent être apportés par leur nourriture

Bien qu'essentiels pour les fonctions vitales, HUFA n-3 faiblement synthétisés *de novo* chez les poissons marins

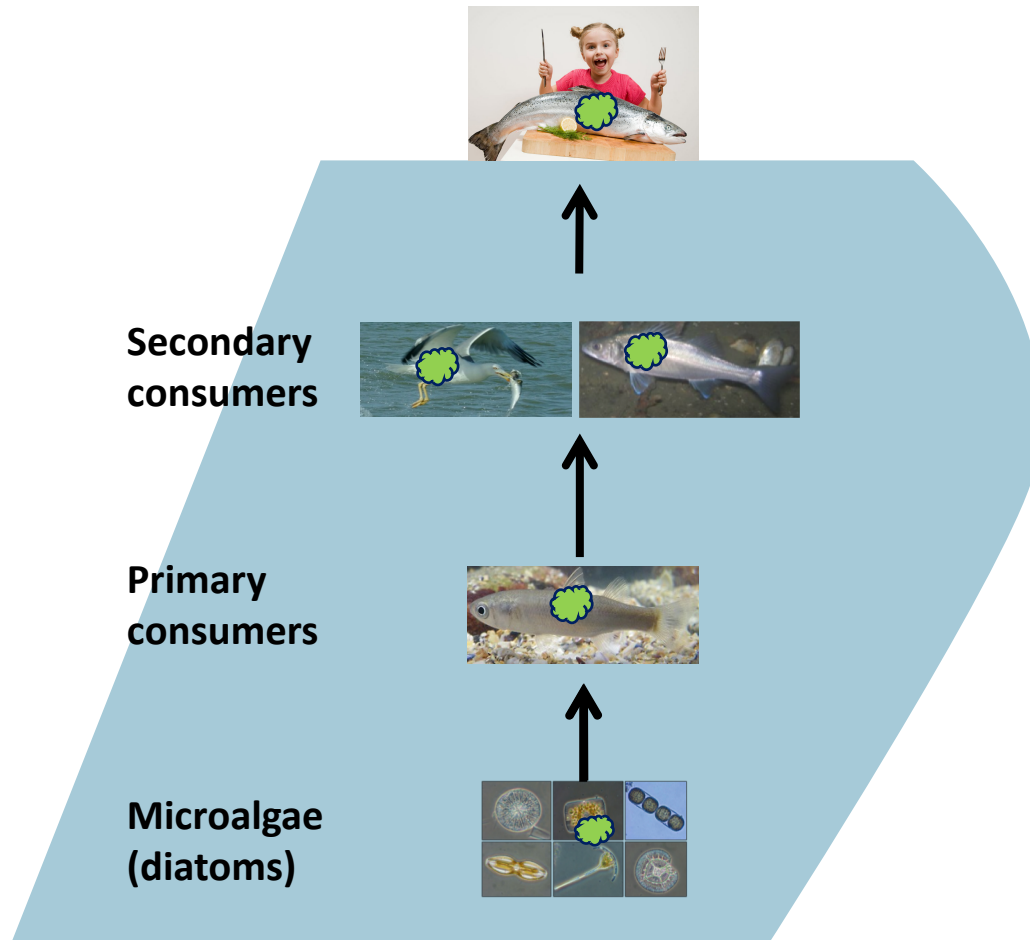
→ Doivent être apportés par leur nourriture

**Microalgae
(diatoms)**



Bien qu'essentiels pour les fonctions vitales, HUFA n-3 faiblement synthétisés *de novo* chez les poissons marins

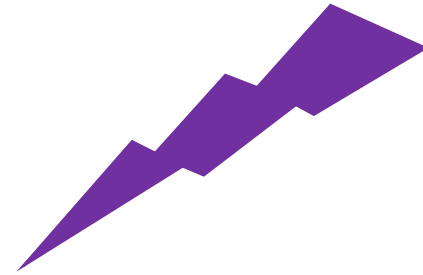
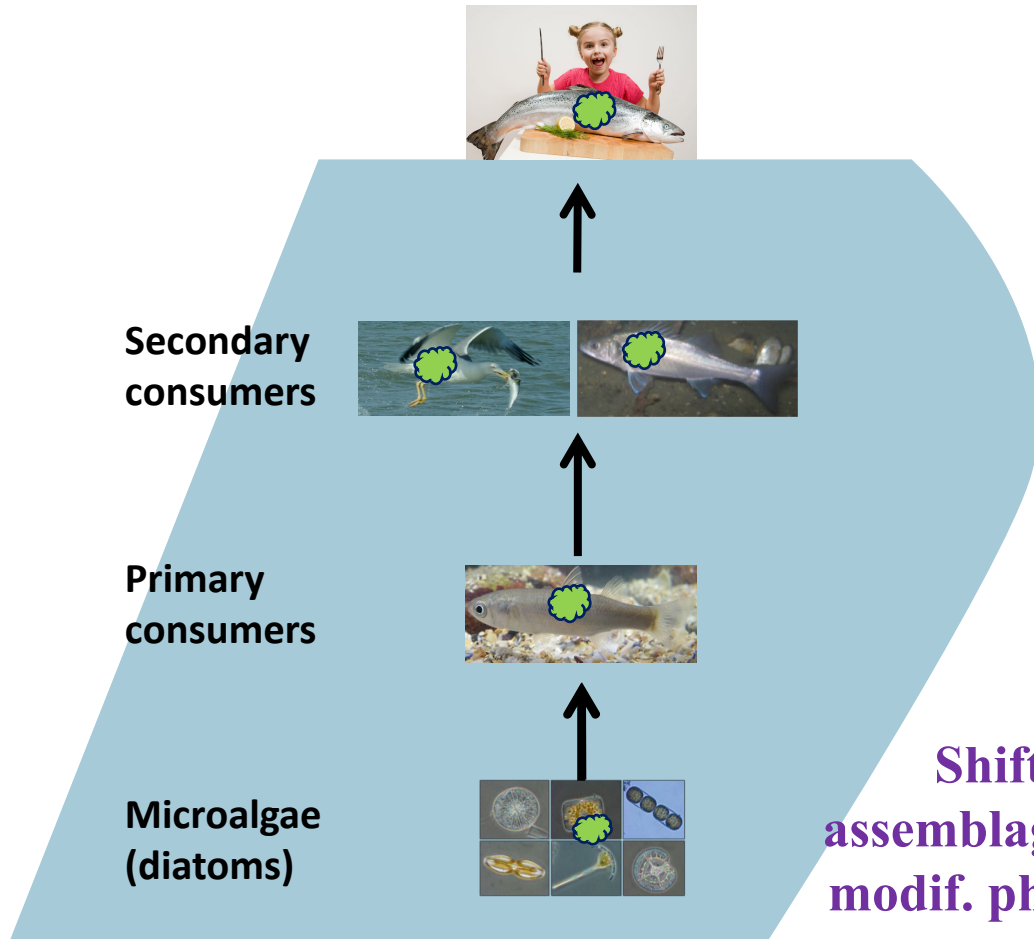
→ Doivent être apportés par leur nourriture



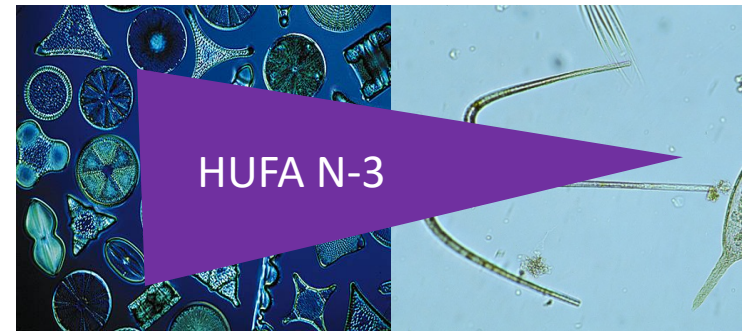
Bien qu'essentiels pour les fonctions vitales, HUFA n-3 faiblement synthétisés *de novo* chez les poissons marins

→ Doivent être apportés par leur nourriture

Global change



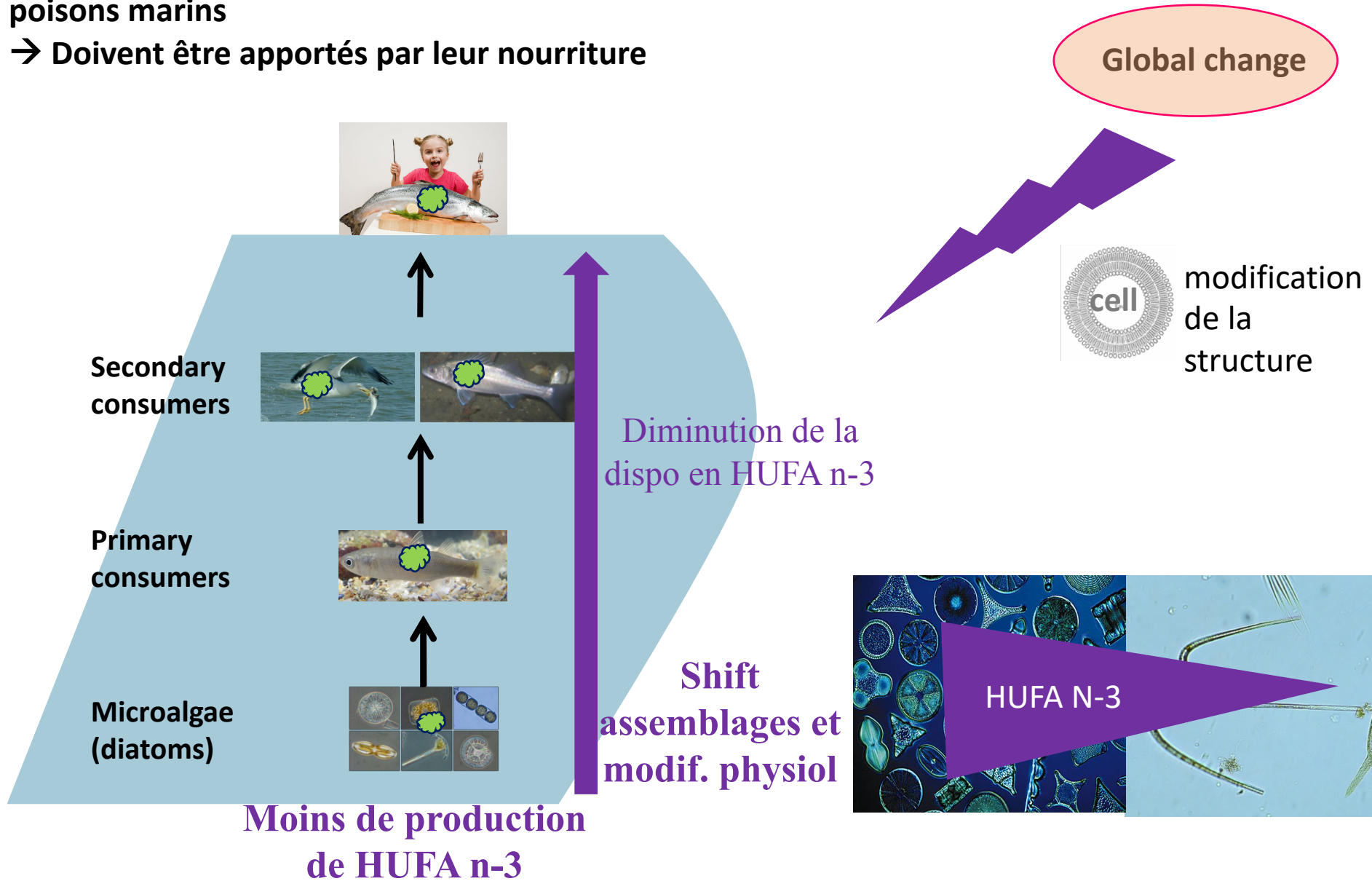
Shift assemblages et modif. physiol



Moins de production de HUFA n-3

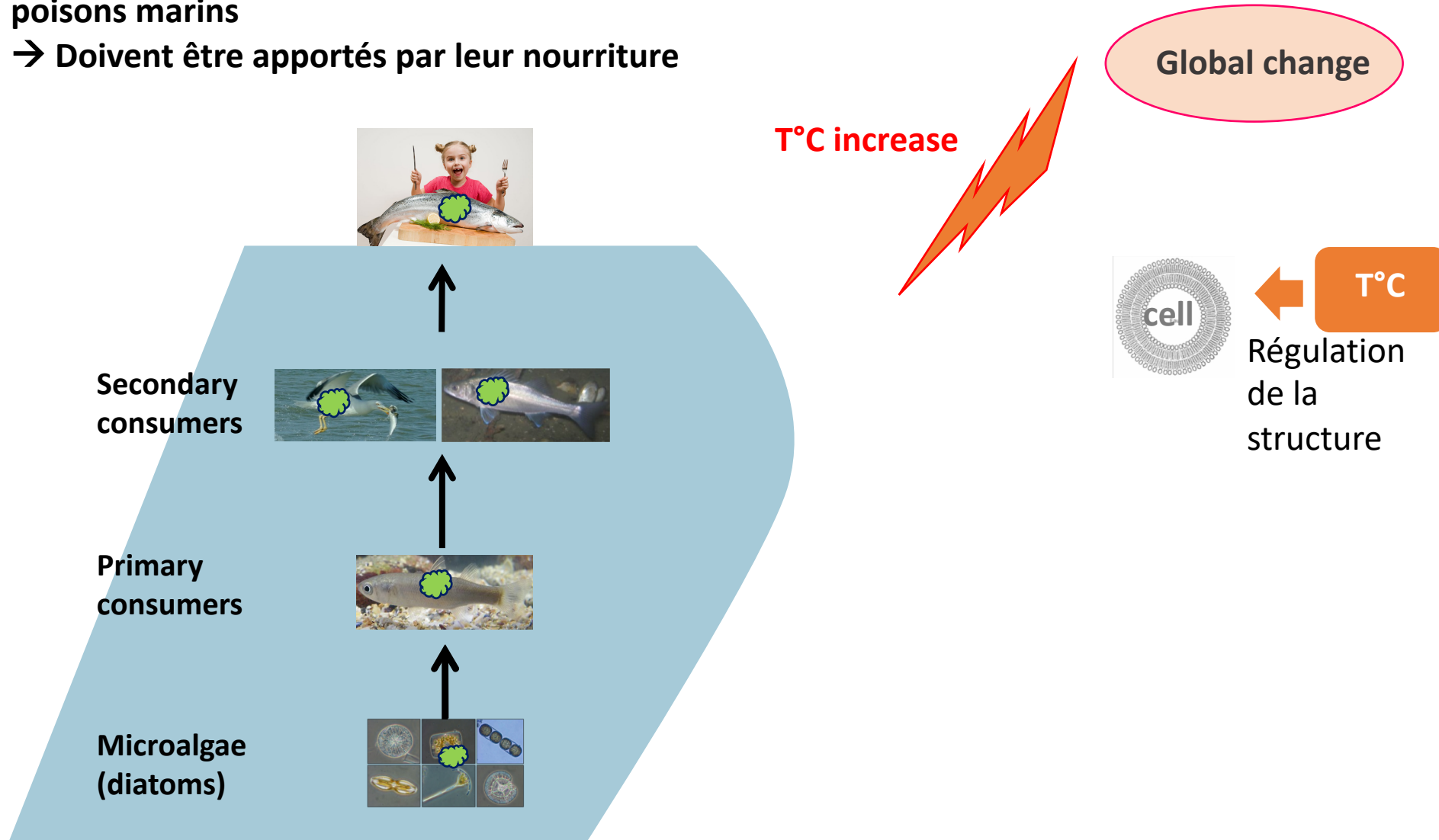
Bien qu'essentiels pour les fonctions vitales, HUFA n-3 faiblement synthétisés *de novo* chez les poissons marins

→ Doivent être apportés par leur nourriture



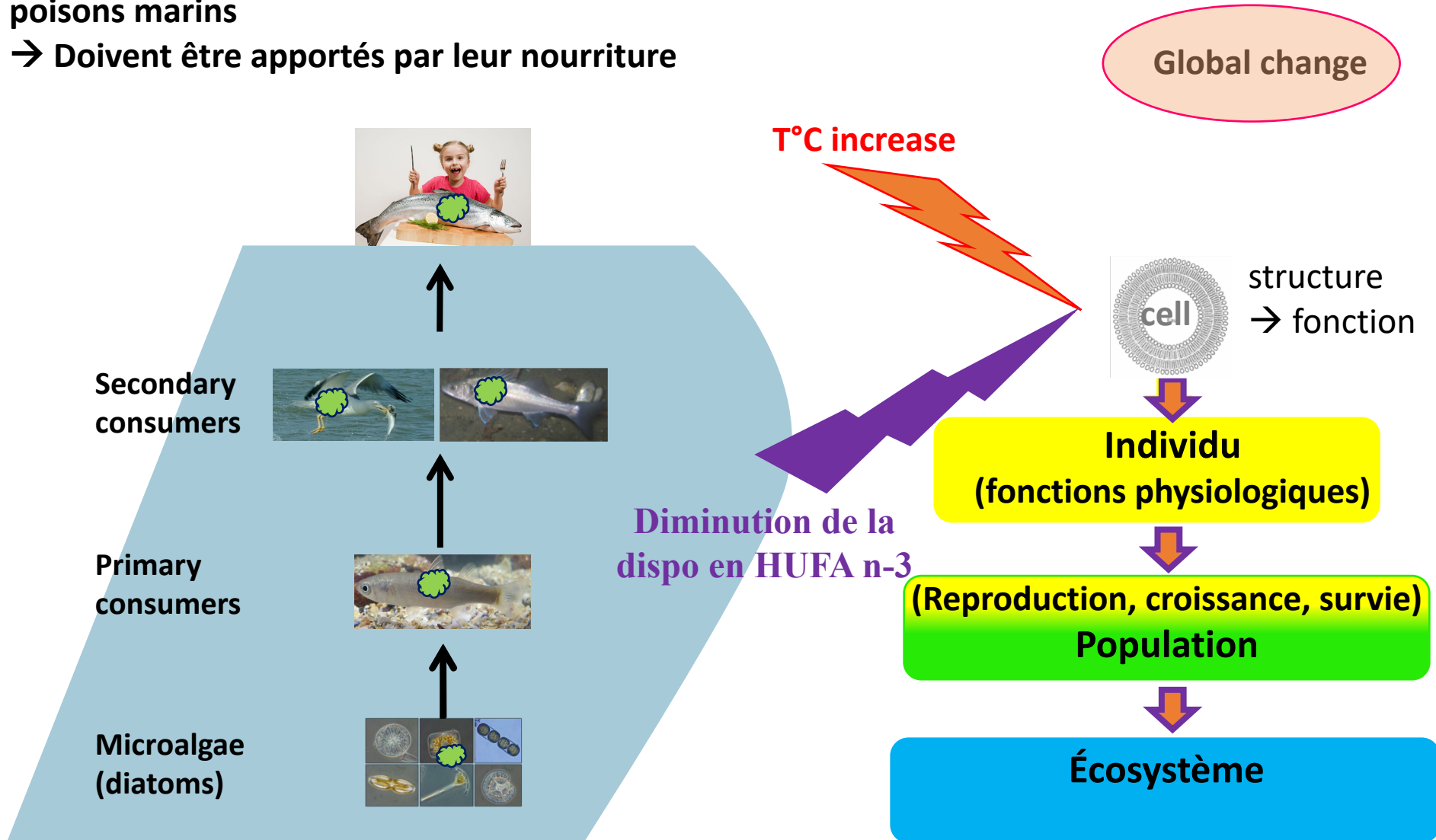
Bien qu'essentiels pour les fonctions vitales, HUFA n-3 faiblement synthétisés *de novo* chez les poissons marins

→ Doivent être apportés par leur nourriture



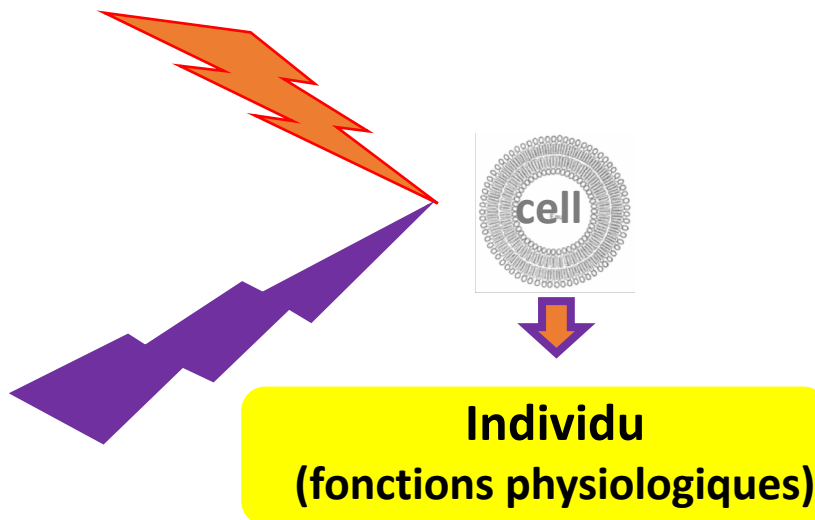
Bien qu'essentiels pour les fonctions vitales, HUFA n-3 faiblement synthétisés *de novo* chez les poissons marins

→ Doivent être apportés par leur nourriture



T°C élevée

Carence
HUFA n-3



RESEARCH ARTICLE

Depletion of Essential Fatty Acids in the Food Source Affects Aerobic Capacities of the Golden Grey Mullet *Liza aurata* in a Warming Seawater Context

Marie Vagner^{1✉*}, Thomas Lacoue-Labarthe^{1✉}, José-Luis Zambonino Infante², David Mazurais², Emmanuel Dubillot¹, Hervé Le Delliou², Patrick Quazugue², Christel Lefrançois¹

1 UMR 7266 Littoral Environnement Sociétés, La Rochelle, France, **2** Ifremer, UMR 6539 Laboratoire des sciences de l'Environnement Marin, Plouzané, France

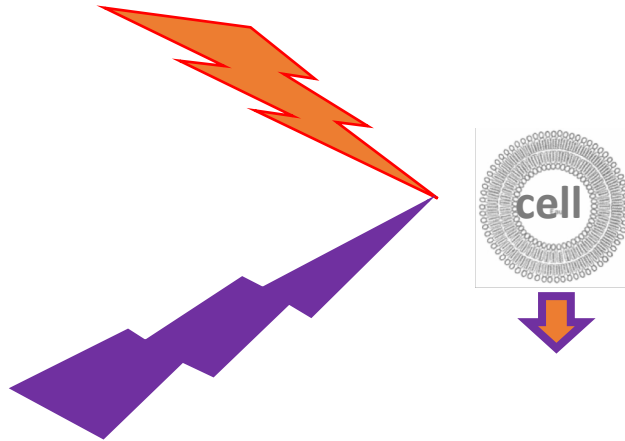
✉ These authors contributed equally to this work.



Plus grande dépense d'énergie pour atteindre une vitesse de nage donnée

T°C élevée

Carence
HUFA n-3



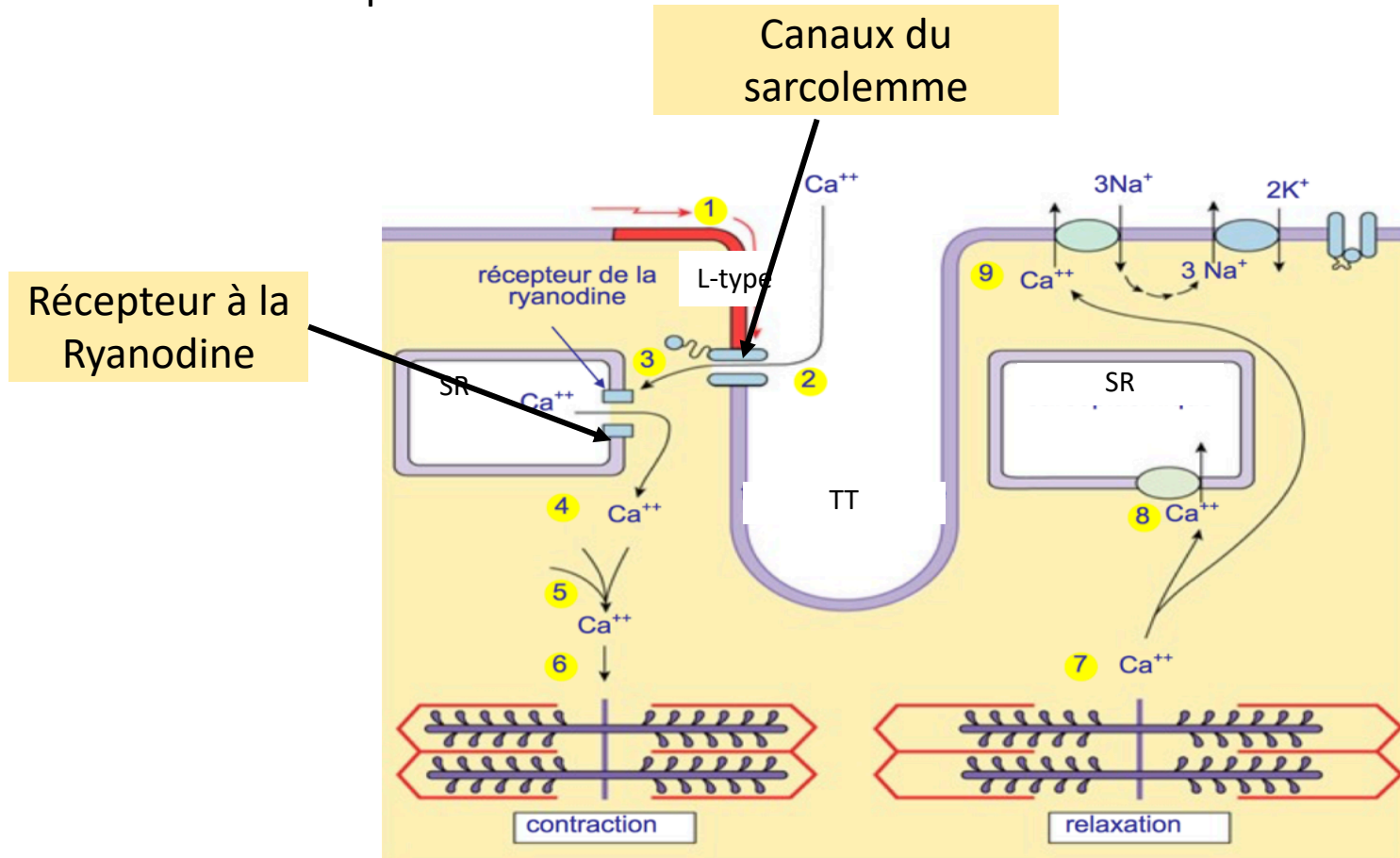
HYPOTHESE:

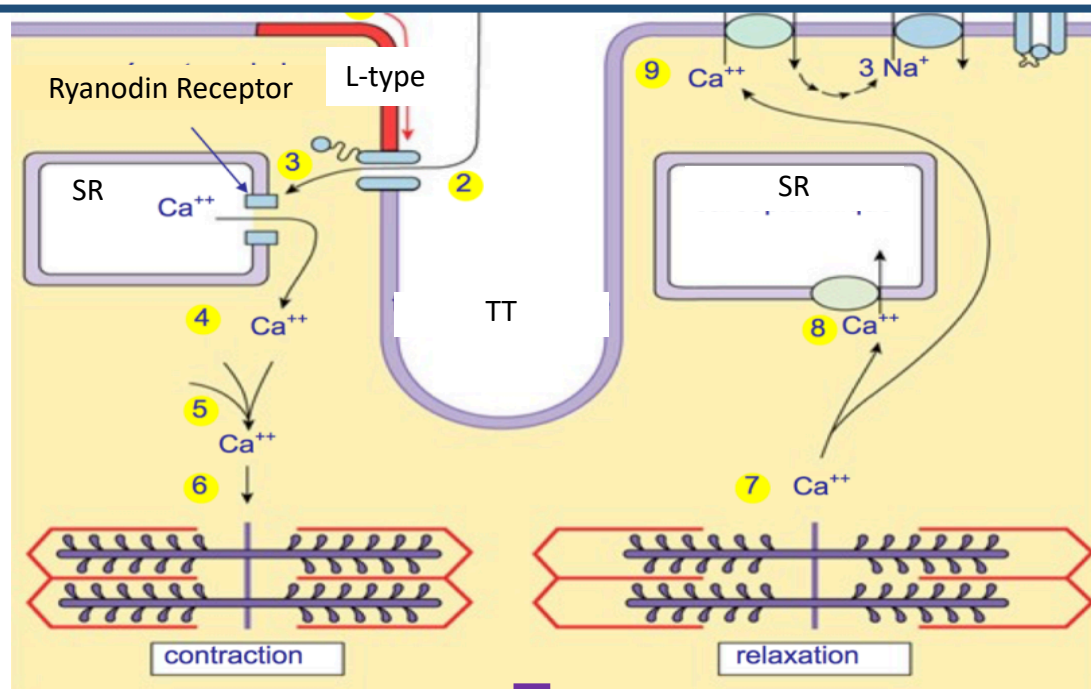
La fonction cardiaque, essentielle pour fournir la quantité requise d'O₂ et de nutriments aux tissus est affectée



Plus grande dépense d'énergie pour atteindre une vitesse de nage donnée

La fonction cardiaque

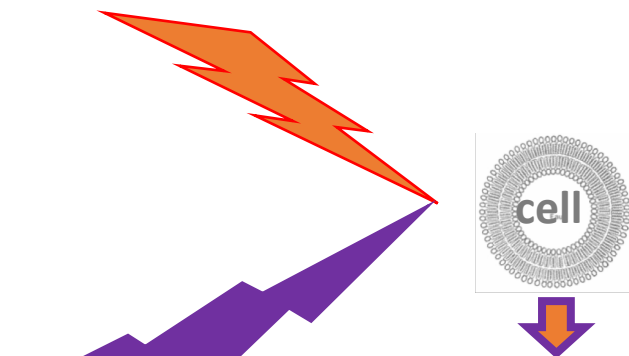


T°C élevée**Carence
HUFA n-3****Conformation des pompes ioniques et des canaux enchâssés dans les membranes cellulaires****Capacité de contraction des cardiomyocytes****Plus grande dépense d'énergie pour atteindre une vitesse de nage donnée**

Objective

T°C élevée

Carence
HUFA n-3



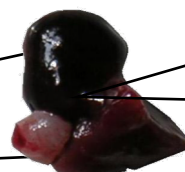
Individu
(fonctions physiologiques)

Integrated Cardiac response

INDIVIDUAL

CELLULAR

MOLECULAR



TGCATTATGCCTGGTCACGTGCAA
CTGTGATTGAAGACTGCATAGTAC

Experimental conditions

4 experimental conditions

- 2 isolipidic & isoproteic diets with \neq omega 3 LC PUFA :
 - **LH: 0.2% & HH: 4.8%** EPA+DHA
- 2 T°C :
 - **12°C**: winter-like & **20°C**: summer-like in the studied area, i.e. Pertuis Charentais)

Low $\Omega 3$ x 20°C
(LH20)

High $\Omega 3$ x 20°C
(HH20)

Low $\Omega 3$ x 12°C
(LH12)

High $\Omega 3$ x 12°C
(HH12)

for 4 months

Experimental conditions

4 experimental conditions

- 2 isolipidic & isoproteic diets with \neq omega 3 LC PUFA :
 - **LH: 0.2% & HH: 4.8%** EPA+DHA
- 2 T°C :
 - **12°C**: winter-like & **20°C**: summer-like in the studied area, i.e. Pertuis Charentais)



for 4 months



INTEGRATIVE RESPONSE

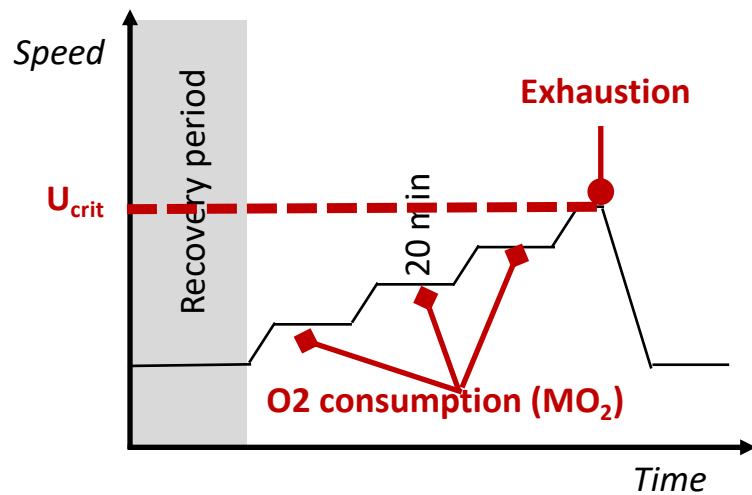
INDIVIDUAL	CELLULAR	MOLECULAR
Swimming test	<i>In vivo</i> heart performance	RNA seq

INDIVIDUAL

Swimming test



Step-protocol (Brett, 1964)

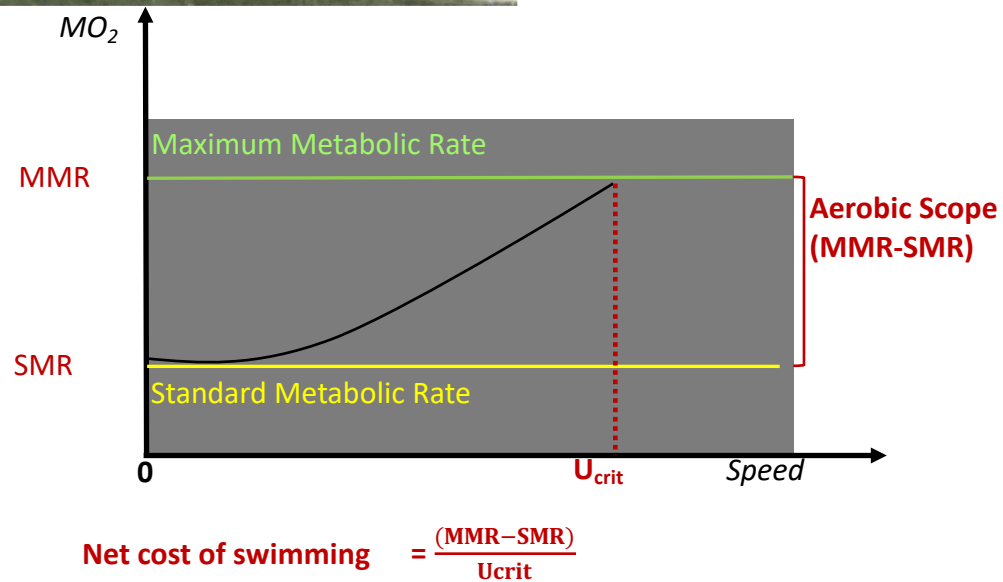
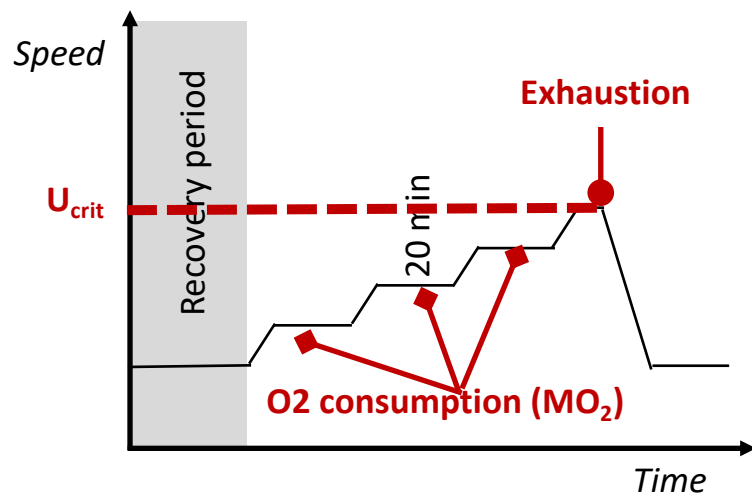


INDIVIDUAL

Swimming test



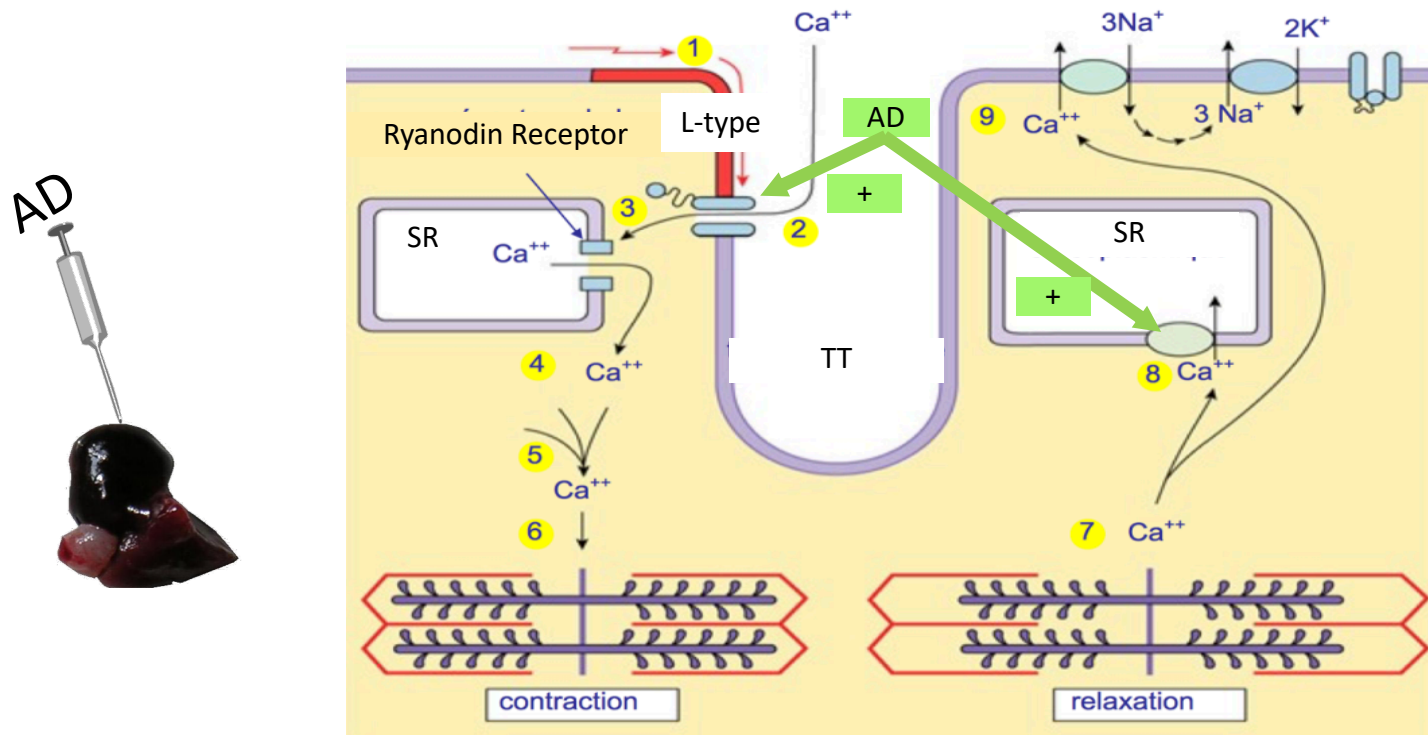
Step-protocol (Brett, 1964)



CELLULAR

In vivo heart performance

Mesure de la capacité de contraction en réponse à différentes fréquences de stimulation

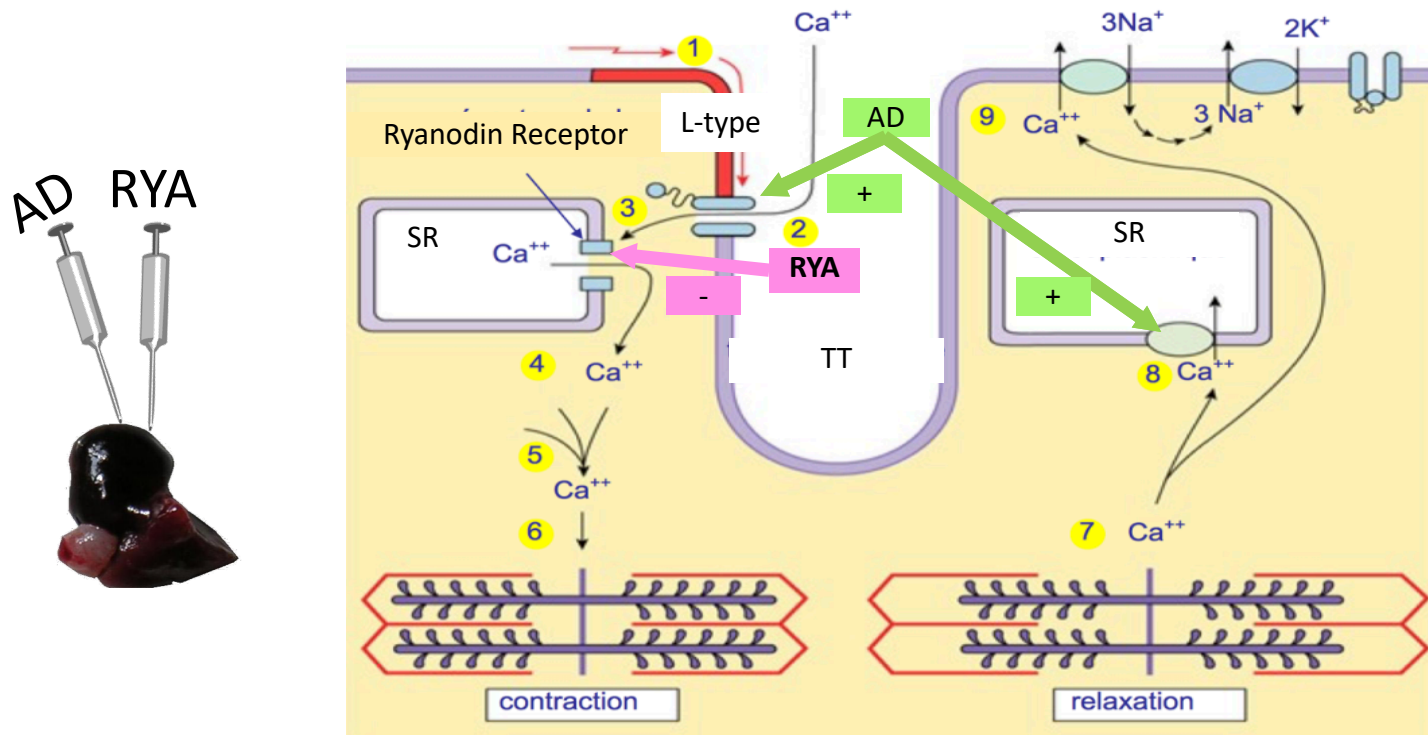


- Evaluation de l'implication des canaux du sarcolemme: injection d'AD dose 10 nmol (mimant le repos) & 10 μ mol (mimant l'effort)

CELLULAR

In vivo heart performance

Mesure de la capacité de contraction en réponse à différentes fréquences de stimulation



- Evaluation de l'implication des canaux du sarcolemme: injection d'AD dose 10 nmol (mimant le repos) & 10 μ mol (mimant l'effort)
- Evaluation de l'implication du SR : injection de RYA pour bloquer les récepteurs à la ryanodine, après injection de AD basal & et d'AD à dose effort

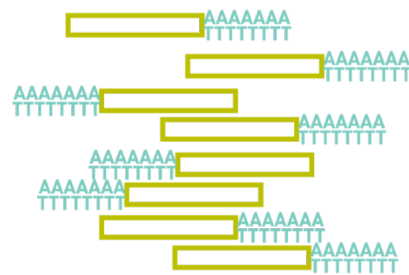
MOLECULAR

RNA seq

1. RNA extraction



> 2. cDNA libraries



> 3. Sequencing

```

aagtcctacggctaa
aacgtccaaaggagt
aacgtccaaaggagt
ttcgagcatagcact
cacgtcgaatgagt
attacgtacgggtaa
tacgtgcttagcagt
tacgtgcttagcagt
tacgtgcttagcagt
atcgaaggctagctat
atcgaaggctagctat

```

> 4. Analyses



MOLECULAR

RNA seq

1. RNA extraction



2. cDNA libraries



3. Sequencing



4. Analyses



```

aacgtccaaaggagt
gttacctacggctaa
aacgtccaaaggagt
ttcgagcatatcgact
cacgtcgaatgagt
attacgtacgggtaa
tacgtgcttacgagt
tacgtgcttacgagt
atcgaaggctagctat
atcgaaggctagctat

```



5. Analyses

- **Differential expression:** a transcript can be under or over expressed



Over-expression



Under-expression

MOLECULAR

RNA seq

1. RNA extraction



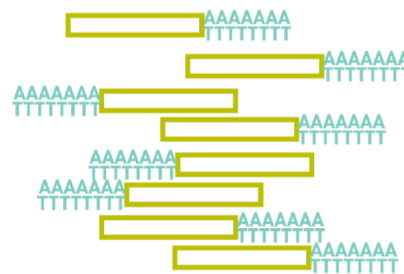
2. cDNA libraries



3. Sequencing



4. Analyses



```

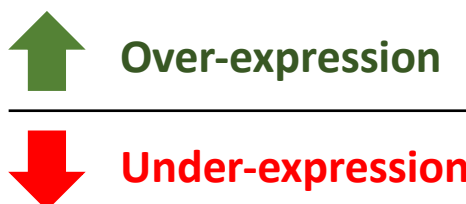
aacgtcaaaggagt
gttacctacggctaa
aacgtcaaaggagt
ttcgagcatacgact
cacgtcgaatgagt
attacgtacgggtaa
tacgtgcttacgagt
tacgtgcttacgagt
atcgaaggctagctat
atcgaaggctagctat

```



5. Analyses

- **Differential expression:** a transcript can be under or over expressed
- **Functional enrichment** => gene ontology (GO) terms



Is there over-representation of a functional process (biol. process/cell. component/mol. function) ?

INDIVIDUAL

Swimming test

Group	U_{crit} (BL s ⁻¹)	SMR (mg O ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)
HH20	8.8±0.4 (n=14)	20.1±2.2 ^a (n=16)
LH20	9.1±0.3 (n=13)	23.6±3.0 ^a (n=12)
HH12	9.6±0.3 (n=14)	37.4±4.1 ^b (n=12)
LH12	9.1±0.3 (n=12)	27.9±3.9 ^b (n=12)
Statistics	NS	Temp**

INDIVIDUAL

Swimming test

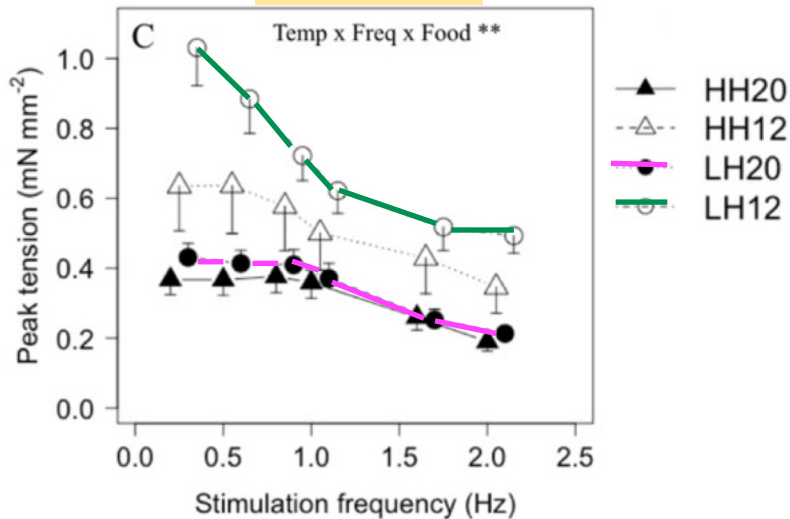
Group	U_{crit} (BL s ⁻¹)	SMR (mg O ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)	MMR (mg O ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)	AS (mg O ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)	NCOT (mg O ₂ kg ⁻¹ m ⁻¹)
HH20	8.8±0.4 (n=14)	20.1±2.2 ^a (n=16)	211.6±10.0 ^b (n=14)	191.2±10.4 ^b (n=14)	22.4±1.4 ^b (n=13)
LH20	9.1±0.3 (n=13)	23.6±3.0 ^a (n=12)	234.9±7.2 ^c (n=13)	213.8±6.3 ^c (n=12)	23.9±1.0 ^b (n=13)
HH12	9.6±0.3 (n=14)	37.4±4.1 ^b (n=12)	57.8±13.1 ^a (n=10)	128.6±13.8 ^a (n=11)	12.9±1.5 ^a (n=11)
LH12	9.1±0.3 (n=12)	27.9±3.9 ^b (n=12)	135.5±10.7 ^a (n=11)	100.5±9.5 ^a (n=10)	12.0±1.5 ^a (n=10)
Statistics	NS	Temp**	Food×Temp*	Food×Temp*	Temp***

MMR and AS highest in LH20, and lowest in LH12

CELLULAR

In vivo heart performance

AD repos

**LH12**

At rest → Higher pumping capacity than in other groups

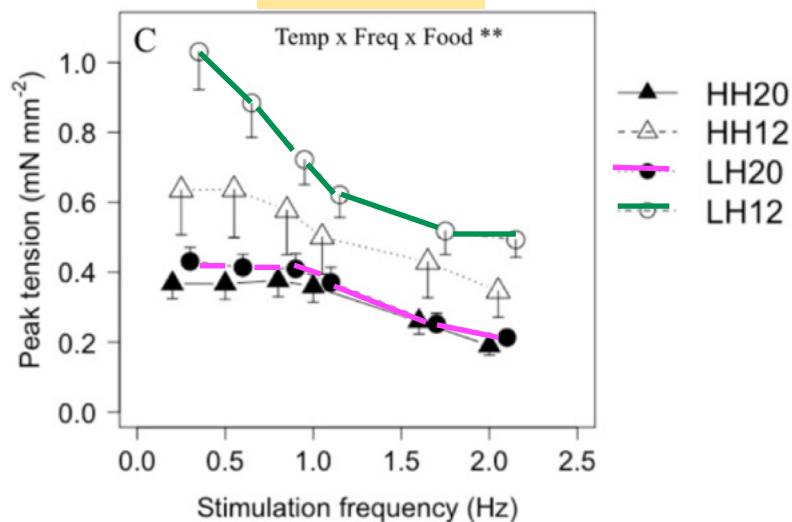
LH20

At rest → lower pumping capacity

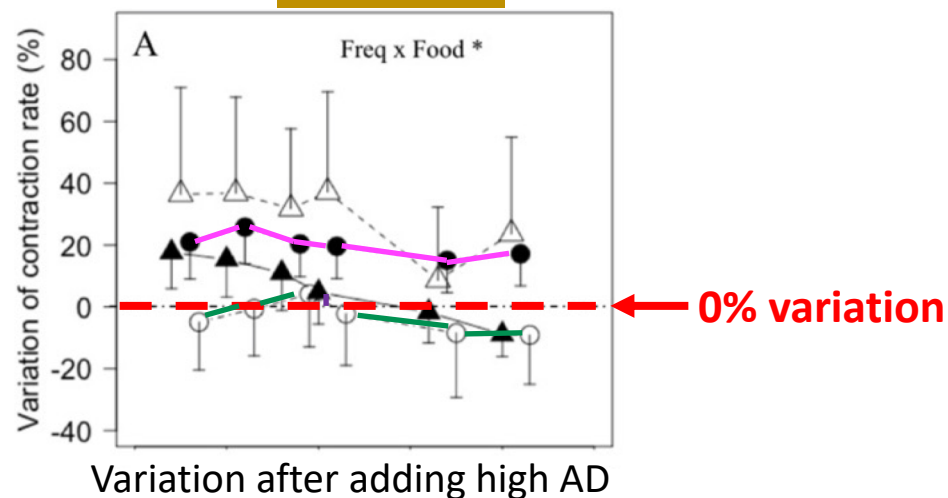
CELLULAR

In vivo heart performance

AD repos



AD Effort



LH12

At rest → Higher pumping capacity than in other groups

Under exercise/stress → do not change (already at its maximum when at rest)?

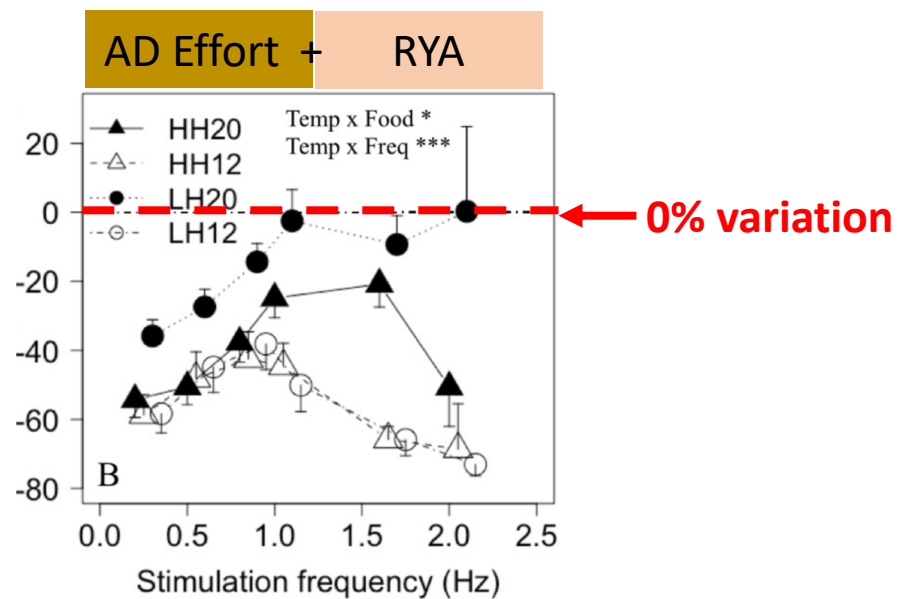
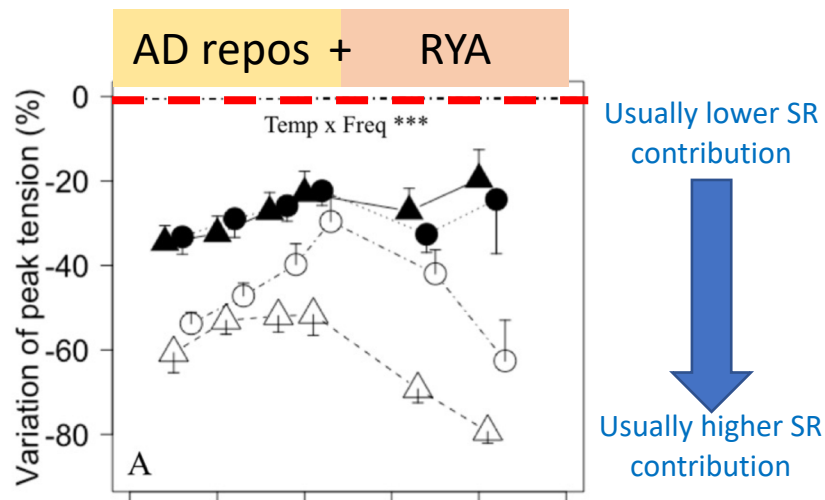
LH20

At rest → lower pumping capacity

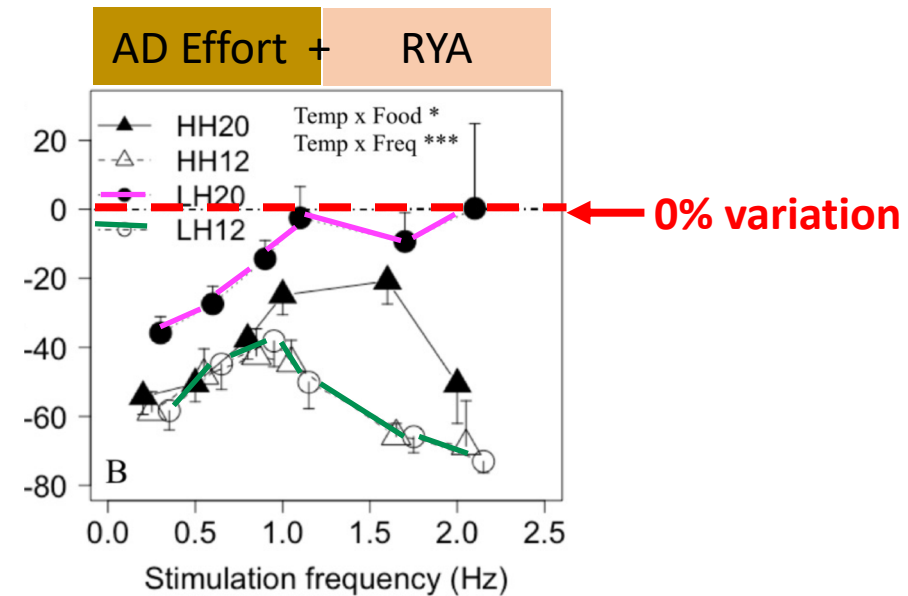
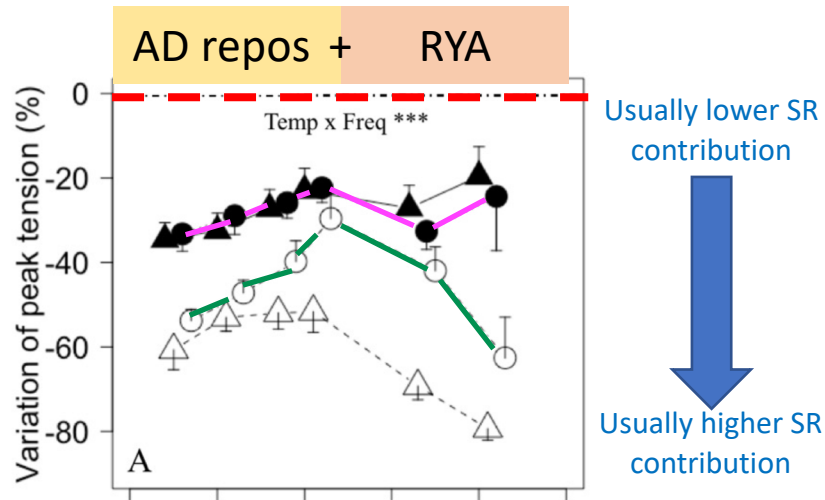
Under exercise/stress → increased => higher adrenergic sensitivity than LH12?

Higher AD sensitivity in LH20 than in LH12

CELLULAR

In vivo heart performance

CELLULAR

In vivo heart performance

⇒ **LH12**: Higher SR contribution reinforced under stressing conditions

⇒ **LH20**: Lower SR involvement than in other groups?

LH20

LH12

CELLULAR

In vivo heart performance

- Greater contraction under effort
 - **Higher** adrenergic sensitivity
 - **Lower** SR contribution
- Contraction at effort = contraction at rest
 - **Lower** adrenergic sensitivity
 - **Higher** SR contribution increasing under stressful conditions

LH20

LH12

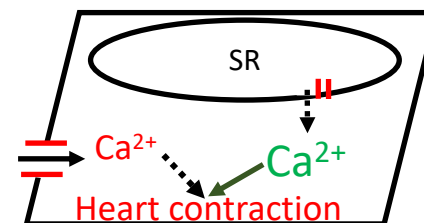
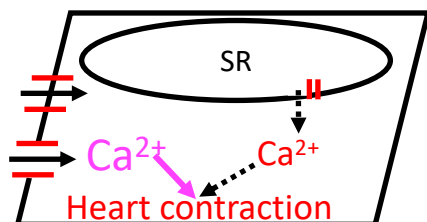
CELLULAR

In vivo heart performance

- Greater contraction under effort
 - **Higher** adrenergic sensitivity
 - **Lower** SR contribution
- Contraction at effort = contraction at rest
 - **Lower** adrenergic sensitivity
 - **Higher** SR contribution increasing under stressful conditions



+ de récepteurs adrénergiques ?
+ d'entrée de Ca^{2+} par les canaux du sarcolemme ?



LH20

LH12

MOLECULAR

RNA seq

- Expression différentielle de gènes impliqués dans le transport de Ca^{2+} membranaire via des canaux Ca^{2+} (L-type)
- Plus grand nombre de transcrits codant pour les canaux L-type
- 11 GO terms 'processus biologique' relatifs à la **régulation du transport transmembranaire ionique** sur-représenté chez LH20 vs LH12 & HH12

LH20

LH12

MOLECULAR

RNA seq

- Expression différentielle de gènes impliqués dans le transport de Ca^{2+} membranaire via des canaux Ca^{2+} (L-type)
 - Plus grand nombre de transcrits codant pour les canaux L-type
 - 11 GO terms 'processus biologique' relatifs à la **régulation du transport transmembranaire ionique** sur-représenté chez LH20 vs LH12 & HH12
- Plus grand nombre de transcrits codant pour les **récepteurs à la RYA**
 - GO terms impliquant le RS seulement sur représentés chez les LH20 (e.g. GO « régulation de la libération de Ca^{2+} ds le cytosol par le RS »)

Global change

LH20

INTEGRATIVE RESPONSE

MOLECULAR

CELLULAR

INDIVIDUAL

RNA seq

In vivo heart performance

Swimming test

High T°C

- Prolifération des canaux Ca²⁺ du sarcolemme & du SR
- A l'effort, force de contraction plus forte grâce à l'augmentation d'afflux extracellulaire de Ca²⁺ par les canaux du sarcolemme

HUFA n-3
depletion

Global change

LH20

INTEGRATIVE RESPONSE

MOLECULAR

CELLULAR

INDIVIDUAL

RNA seq

In vivo heart performance

Swimming test

High T°C

- Prolifération des canaux Ca²⁺ du sarcolemme & du SR
- A l'effort, force de contraction plus forte grâce à l'augmentation d'afflux extracellulaire de Ca²⁺ par les canaux du sarcolemme

- Plus haut MMR, AS et relatif NCOT

HUFA n-3
depletion

Global change

LH20

INTEGRATIVE RESPONSE

MOLECULAR

CELLULAR

INDIVIDUAL

RNA seq

In vivo heart performance

Swimming test

High T°C

- Prolifération des canaux Ca²⁺ du sarcolemme & du SR
- A l'effort, force de contraction plus forte grâce à l'augmentation d'afflux extracellulaire de Ca²⁺ par les canaux du sarcolemme

- Plus haut MMR, AS et relatif NCOT

HUFA n-3
depletionHypothèse d'une stratégie coûteuse de mobilisation du Ca²⁺

Global change

LH20

INTEGRATIVE RESPONSE

MOLECULAR

CELLULAR

INDIVIDUAL

RNA seq

In vivo heart performance

Swimming test

High T°C

- Prolifération des canaux Ca²⁺ du sarcolemme & du SR
- A l'effort, force de contraction plus forte grâce à l'augmentation d'afflux extracellulaire de Ca²⁺ par les canaux du sarcolemme

- Plus haut MMR, AS et relatif NCOT

HUFA n-3 depletion

Hypothèse d'une stratégie coûteuse de mobilisation du Ca²⁺

Quelles conséquences écologiques?



MERCI

Mickaël Le Gac & Julien Quéré for help with the preparation of DNA libraries

M. Durollet for help with fish rearing

GenoToul platform for help and computing resources

Pour en savoir plus

Vagner M, Pante E, Viricel A, Lacoue-Labarthe T, Zambonino-Infante J-L, Quazuguel P, Dubillot E, Huet V, Le Delliou H, Lefrançois C, Imbert-Auvray N (2019) Ocean warming combined with lower omega-3 nutritional availability impairs the cardio-respiratory function of a marine fish. The Journal of Experimental Biology jeb.187179. doi:

[10.1242/jeb.187179](https://doi.org/10.1242/jeb.187179)