



**Étude des mécanismes physiologiques sous-jacents aux écotypes
de civelles d'eau douce et marines *d'Anguilla rostrata***

Thèse présentée

dans le cadre du programme de doctorat en océanographie
en vue de l'obtention du grade de *Philosophiæ* Doctor (Ph. D.)

PAR

© MÉLANIE GAILLARD

juillet 2016

Composition du jury :

Jean-Claude Brêthes, président du jury, Université du Québec à Rimouski (Canada)

Céline Audet, directrice de recherche, Université du Québec à Rimouski (Canada)

Louis Bernatchez, codirecteur de recherche, Université Laval (Canada)

Françoise Daverat, examinatrice externe, Institut national de recherche en sciences et technologies pour l'environnement et l'agriculture, Centre de Bordeaux (France)

Dépôt initial le 25 avril 2016

Dépôt final le 25 juillet 2016

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

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

À ma mère Sylvia et
mon grand-frère Jonas pour leur
soutien sans faille

REMERCIEMENTS

À mon président de jury, le Professeur Jean-Claude Brêthes en océanographie biologique et titulaire de la chaire UNESCO en analyse intégrée des systèmes marins,

Vous m'avez fait l'honneur de présider ce jury. Je vous remercie de vos précieuses annotations sur mon manuscrit ainsi que toutes vos observations sur la qualité, la clarté et la pédagogie de mon travail dès le séminaire 1, qui ont orienté mon écriture scientifique à une plus large accessibilité. C'est avec joie que je vous solliciterai pour une relecture de mes prochaines écritures.

À ma directrice de recherche, la Professeure Céline Audet en écophysiologie des poissons et directrice du réseau de recherche Ressources Aquatiques Québec,

Vous avez été un modèle de femme scientifique, passionnée, multi-polyvalente avec une grande ouverture d'esprit scientifique. Grâce à vous, j'ai franchi l'Atlantique, exploré trois rivières du Canada, fait des centaines d'extractions, mis les gants dans la radioactivité entre trois comités, douze congrès et séminaires. Dans votre laboratoire, j'ai pu innover, publier, partager dans une grande liberté. Votre confiance m'a permis de proposer grâce à la rigueur scientifique de votre méthodologie, des modèles sur les déterminismes probables de la variation écotypique d'une précieuse ressource aquatique et je vous en remercie.

À mon codirecteur de recherche, le Professeur Louis Bernatchez en écologie moléculaire, comportementale et évolutive et titulaire de la Chaire de recherche du Canada en génomique et conservation des ressources aquatiques,

Vous m'avez toujours encouragé en m'invitant dès les premiers résultats d'une divergence phénotypique importante entre les écotypes de civelles, à élargir mes connaissances en biologie évolutive, grâce à vous, j'ai pu conceptualiser l'écophysiologie dans un cadre évolutif par une approche transcriptomique.

Je vous remercie pour l'accueil enthousiaste que vous avez toujours eu sur mes propositions de pistes de recherche ainsi que pour toutes vos formules positives d'accomplissement.

À mon examinatrice externe, Docteur HDR Françoise Daverat en sciences des otolithes, responsable de l'équipe poissons migrateurs amphihalins de l'unité de recherche EABX de l'IRSTEA,

Je vous remercie d'avoir accepté d'évaluer ma thèse de doctorat dans un temps limité et considérant la conjoncture française actuelle. Vos questions sur les principaux éléments de mes résultats par visio conférence lors de ma soutenance m'ont intéressée soulignant les contraintes logistiques que pose l'étude des civelles et d'une « espèce en danger », et la source de nouvelles connaissances écophysiologiques qu'apporte l'étude d'une population panmictique et catadrome.

À mes Proches,

À mon frère Jonas Gaillard doctorant en philosophie,

Je remercie tout particulièrement mon frère pour nos longues discussions sur la science ainsi que pour ses conseils en éthique, bioéthique et philosophique.

À ma mère,

Mes remerciements les plus affectueux à ma mère adorée qui avec tout son art m'a accompagnée et soutenue pour une excellente aventure universitaire canadienne, ainsi qu'à tous ses amis bordelais pour leurs attentions touchantes.

AVANT-PROPOS

Cette thèse s'inscrit dans le cadre d'une subvention stratégique du Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et Génie (CRSNG) du Canada (subvention stratégique N° 397689–10 STPGP).

Cette thèse débute par une introduction générale portant sur une revue de littérature des concepts évolutifs sous-jacents au contexte de la thèse ainsi que de la biologie de l'espèce à l'étude puis présente le cadre conceptuel de la recherche. Les trois chapitres de cette thèse sont rédigés sous forme d'articles scientifiques.

Le premier article s'intitule « **Regional variation in energy storage strategies in American glass eels from Eastern Canada** » et a été publié le 19 juin 2015 dans la revue *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* (188 : 87–95).

Le deuxième article s'intitule « **Regional variation of gene regulation associated with lipid storage lipid metabolism in American glass eel (*Anguilla rostrata*)** » et a été publié le 22 février 2016 dans *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* (196 : 30–37).

Le troisième article s'intitule « **Testing for an endocrine control of habitat selection in American glass eel by mean of candidate genes transcriptomics** » et a été soumis pour publication à la revue *General and Comparative Endocrinology* en mai 2016.

La thèse se termine par un chapitre de conclusions et discussion générale dans lequel je propose des modèles possibles des déterministes écophysiologiques, physiologiques et moléculaires de la variation écotypique observée chez les civelles d'*Anguilla rostrata* aux prémisses de leur recrutement dans les habitats trophiques continentaux.

Les résultats de cette thèse ont été présentés à de nombreux congrès grâce à l'appui financier de Ressources Aquatiques Québec (RAQ) pour lequel je tiens à remercier tout particulièrement.

Les étés de pêche ont été possibles grâce aux équipes de terrain du laboratoire de Céline Audet, de Louis Bernatchez, du ministère des pêches et océans Canada et du ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs pour lesquels je remercie toutes les équipes.

Je remercie aussi l'ensemble de l'équipe de mon laboratoire, de la stratégique, de mon comité de thèse, de l'ISMER-UQAR et les appuis financiers, CRSNG, ISMER, RAQ, qui ont contribué et m'ont permis de faire progresser toutes mes connaissances dans tous les domaines.

RÉSUMÉ

Les travaux de recherche effectués dans le cadre de cette thèse avaient pour objectif d'identifier les déterminismes physiologiques, énergétiques et endocriniens des formes migratrices des civelles d'*Anguilla rostrata* en fonction de la variabilité temporelle des dates d'arrivée en estuaire, de la variabilité spatiale des régions de recrutement, et des préférences de salinité individuelles. Le premier objectif était d'examiner la condition corporelle et les contenus énergétiques individuels des civelles, afin de vérifier si les réserves énergétiques permettaient la différenciation des formes migratrices d'eau douce ou d'eau salée/saumâtre selon la région de recrutement ou la préférence de salinité. Un second objectif consistait à comparer les niveaux des transcrits de gènes candidats impliqués dans la régulation de l'appétit et du métabolisme énergétique, afin de déterminer si la régulation génique du métabolisme énergétique permettait aussi la différenciation des formes migratrices au stade civelle, et si cette régulation variait spatialement et temporellement. Finalement, le troisième objectif de la thèse était d'examiner les déterminismes endocriniens de la catadromie facultative dès le stade de recrutement, *via* l'étude des patrons d'expression de gènes codant pour des hormones régulant les fonctions de l'osmorégulation, la métamorphose et la croissance dans le but de clarifier les facteurs internes sous-jacents à la sélection de l'habitat.

Les résultats présentés au premier chapitre montrent une divergence régionale dans les stratégies de stockage d'énergie. Les civelles de la région de l'écotype eau douce sont de plus grande taille et ont des contenus en triacylglycérols 73,8 % plus faibles et en glycogène total 67,7 % plus élevés par rapport à celles de la région de l'écotype eau salée/saumâtre. Une différence de deux semaines dans les dates d'arrivée se caractérise par une baisse significative des réserves énergétiques chez les deux écotypes. Les résultats obtenus indiquent que l'indice de condition est corrélé aux contenus en réserves énergétiques (triacylglycérols, stérols et cires estérifiées, et glycogène total), relation examinée pour la première fois chez les civelles d'anguille d'Amérique.

Les résultats présentés au deuxième chapitre montrent que l'écotype d'eau douce semble avoir une meilleure aptitude à mobiliser efficacement les réserves en triacylglycérol, les gènes de la lipase pancréatique et de la triacylglycérol lipase étant surexprimés respectivement de 7,65 et 3,25 fois à l'écotype eau salée/saumâtre. Ces différences transcriptionnelles expliquent à elles seules près de 80 % des divergences entre les écotypes régionaux. L'absence de variation des niveaux d'expression des transcrits des hormones qui régulent l'appétit et la glyco-génolyse entre écotypes, suppose une régulation post-transcriptionnelle du métabolisme énergétique si nous prenons en compte les différences phénotypiques observées au niveau des réserves énergétiques.

Dans le troisième chapitre, les travaux présentés montrent que l'écotype d'eau douce aurait de meilleures aptitudes à l'osmorégulation et à la croissance. Leur profil d'expression génique variait selon la distance au site de frai comme suit : les civelles de provenance de la péninsule gaspésienne montraient les plus hauts niveaux d'expression des transcrits des hormones hypophysaires et thyroïdiennes alors que celles de l'estuaire maritime du Saint-Laurent avaient la plus forte expression du gène codant pour les récepteurs du facteur de croissance insulinaire. À l'opposé, tous les niveaux des transcrits des neuf gènes candidats étudiés étaient moins exprimés chez l'écotype eau salée/saumâtre.

Les résultats de cette thèse ont permis de caractériser les écotypes en période de recrutement et de proposer un nouveau modèle des mécanismes physiologiques et moléculaires sous-jacents au recrutement des écotypes eau douce et eau salée/saumâtre. Grâce aux outils écophysiologiques et moléculaires, les résultats fournissent d'autres indications d'un contrôle à la fois génétique et environnemental sur l'expression des écotypes et donc, de différences au niveau des mécanismes de régulation du métabolisme énergétique, de la croissance, du développement post-larvaire et possiblement de l'osmorégulation. Ces nouvelles connaissances biologiques sont capitales pour la compréhension de la distribution des écotypes chez les anguilles et contribuent à l'amélioration des connaissances sur la catadromie facultative chez les poissons. Ces nouvelles connaissances sur les déterminismes biologiques sous-tendant le recrutement des écotypes de civelles, aideront à l'amélioration des mesures du recouvrement du stock de l'écotype d'eau douce dans les régions du fleuve et du Golfe du Saint-Laurent, en procurant de nouveaux éléments de réponses aux questions d'importance soulevées, tant sur le plan biologique que sur le plan économique, face au déclin sévère des indices de recrutement d'*A. rostrata* dans ces régions canadiennes.

Mots clés : civelles, *Anguilla rostrata*, écotype, catadromie facultative, réserves énergétiques, lipides, expression génique, hormones, sélection de l'habitat, mécanismes adaptatifs

ABSTRACT

The aim of this thesis was to identify the physiological, energetic and endocrine factors which determine the migratory forms in *Anguilla rostrata* glass eels, with specific considerations regarding the time of arrival in estuaries, the geographical region where the recruitment takes place and salinity preference of individuals. The first objective was to examine the condition factor and the energetic status in glass eels in order to verify if migratory forms could be distinguished by their energy storage according to the region and/or the salinity preference. A second objective was to compare the levels of candidate gene transcripts associated with the feeding regulation and the energetic metabolism and verify whether this regulation varies spatially and/or temporally. Finally, the third objective was to determine the endocrine mechanisms underlying the presence of facultative catadromy by investigating the patterns of gene transcripts coding for hormones regulating osmoregulation, metamorphosis, and growth. Ultimately, the aim was to clarify the biological factors underlying habitat selection during recruitment.

In Chapter I, a regional divergence in energy storage strategies was observed. The glass eels of the freshwater ecotype were larger and had 73.8 % lesser triacylglycerol content and 67.7 % higher glycogen content than the ones of the brackish/saltwater ecotype. For both ecotypes, a difference of two weeks in arrival impacted the levels of the energetic reserves. For the first time, the condition index in glass eels was proven to be a proxy of triacylglycerol, sterol and wax esters, and total glycogen contents.

The results reported in Chapter II revealed that the freshwater ecotype mobilized more efficiently the triacylglycerol reserves due to overexpression of bile-salt activated and triacylglycerol lipases 7.65 and 3.25 times respectively compared to the brackish/saltwater ecotype. These transcriptional differences explained 80 % of the dissimilarities recorded between regional ecotypes. Given the phenotypic differences found in the first chapter, the similar levels of RNA transcripts involved in feeding regulation and glycogenolysis between ecotypes points to a post-transcriptional regulation of the energetic metabolism.

In Chapter III, we unveiled that the freshwater ecotype may also have a better ability to osmoregulate and grow. Gene expression patterns differed according to the distance to the Sargasso Sea: glass eels from Gaspé had the highest levels of pituitary and thyroid hormones transcripts, while those from the St-Lawrence Estuary had the highest levels of gene expression of the insulin-like growth factor. On the other hand, all transcripts levels of the nine candidate genes examined were less expressed in the brackish/saltwater ecotype.

Overall, this research allowed to characterise the ecotypes at the recruitment stage and to build a new model of the physiological and molecular mechanisms underlying the recruitment of freshwater and brackish/saltwater ecotypes. By using eco-physiological and molecular tools, we were able to give further insights on the genetic and environmental controls upon glass eel ecotype. We suggest the existence of differential regulation mechanisms relative to energetic metabolism, growth, osmoregulation, and post-larval development. This new biological information is crucial to better understand the distribution of eel ecotypes and greatly contributes to the building knowledge on the facultative catadromy in fishes. This work led to significant scientific findings on the biological determinisms underlying the recruitment of glass eel ecotypes. This new scientific contribution may help to improve recovery programs to be implemented in the River and Gulf St-Lawrence in response to the dramatic biological and economical issue associated with the decline of the recruitment of *A. rostrata* in these Canadian regions.

Keywords: glass eels, *Anguilla rostrata*, ecotype, facultative catadromy, energetic reserves, lipids, gene expression of candidate genes, hormones, habitat selection, adaptive mechanisms

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	ix
AVANT-PROPOS.....	xi
RÉSUMÉ.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
TABLE DES MATIÈRES.....	xvii
LISTE DES TABLEAUX.....	xxiii
LISTE DES FIGURES.....	xxv
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES.....	xxix
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
MÉCANISMES IMPLIQUÉS DANS LES RÉPONSES ADAPTATIVES.....	3
La plasticité phénotypique.....	3
L'évolution adaptative de la plasticité phénotypique.....	5
L'adaptation locale.....	7
La sélection spatialement variable.....	8
LES DIFFÉRENTS PATRONS GÉOGRAPHIQUES POPULATIONNELS.....	11
Les différents patrons.....	11
Les écotypes, étape préliminaire de la différenciation.....	12
IMPACTS DES CHANGEMENTS ENVIRONNEMENTAUX GLOBAUX SUR LA BIODIVERSITÉ	
MARINE.....	15
NOTRE MODÈLE : L'ANGUILLE D'AMÉRIQUE, <i>ANGUILLA ROSTRATA</i>	20
Son cycle biologique.....	22
Son statut de conservation.....	26

Questionnement.....	28
OBJECTIFS DE RECHERCHE.....	29
Objectif général.....	29
Objectifs spécifiques.....	30
CHAPITRE 1 VARIATION RÉGIONALE DES STRATÉGIES DE STOCKAGE D'ÉNERGIE CHEZ LES CIVELLES D'ANGUILLE D'AMÉRIQUE DE L'EST DU CANADA.....	33
1.1 RÉSUMÉ.....	33
1.2 REGIONAL VARIATION IN ENERGY STORAGE STRATEGIES IN AMERICAN GLASS EELS FROM EASTERN CANADA.....	35
1.3 ABSTRACT.....	35
1.4 KEY WORDS.....	35
1.5 INTRODUCTION.....	36
1.6 MATERIAL AND METHODS.....	39
1.6.1 Fish collection.....	39
1.6.2 Homogenates.....	41
1.6.3 Analyses.....	42
1.6.4 Statistical analyses.....	43
1.7 RESULTS.....	44
1.7.1 Comparisons between rivers and dates of capture.....	44
1.7.2 Comparison among glass eels exhibiting different salinity preferences.....	46
1.7.3 Condition index and energy reserves.....	47
1.8 DISCUSSION.....	48
1.8.1 Comparisons between rivers and dates of capture.....	49
1.8.2 Comparison between glass eels exhibiting different salinity differences.....	54
1.9 CONCLUSION.....	55
1.10 ACKNOWLEDGMENTS.....	55
1.11 REFERENCES.....	56

CHAPITRE 2 VARIATION RÉGIONALE DES EXPRESSIONS DE GÈNES RELIÉS AU MÉTABOLISME DES LIPIDES DE RESERVE CHEZ LES CIVELLES D'ANGUILLE D'AMÉRIQUE (<i>ANGUILLA ROSTRATA</i>).....	69
2.1 RÉSUMÉ.....	69
2.2 REGIONAL VARIATION OF GENE REGULATION ASSOCIATED WITH STORAGE LIPID METABOLISM IN AMERICAN GLASS EEL (<i>ANGUILLA ROSTRATA</i>)	71
2.3 ABSTRACT	72
2.4 KEY WORDS.....	72
2.5 INTRODUCTION.....	73
2.6 MATERIALS AND METHODS.....	75
2.6.1 Sampling	75
2.6.2 Candidate and reference genes.....	76
2.6.3 Whole body grinding	76
2.6.4 Total RNA extraction.....	76
2.6.5 Reverse transcription.....	77
2.6.6 Specific sequences and design of taqman primers and probes	77
2.6.7 Real-time PCR	80
2.6.8 Statistical analyses	81
2.7 RESULTS.....	83
2.8 DISCUSSION.....	87
2.8.1 Enzymes involved in lipid metabolism.....	87
2.8.2 Glycogen phosphorylase	89
2.8.3 Ghrelin and leptin receptor	90
2.9 CONCLUSION	91
2.10 ACKNOWLEDGMENTS.....	92
2.11 REFERENCES	92

CHAPITRE 3 ÉVALUATION DU CONTRÔLE ENDOCRINIEN SUR LA SÉLECTION DE L'HABITAT DES CIVELLES D'ANGUILLE D'AMÉRIQUE PAR LA TRANSCRIPTOMIQUE DE GÈNES CANDIDATS	103
3.1 RÉSUMÉ	103
3.2 TESTING FOR AN ENDOCRINE CONTROL OF HABITAT SELECTION IN AMERICAN GLASS EEL BY MEAN OF CANDIDATE GENES TRANSCRIPTOMICS	105
3.3 ABSTRACT	106
3.4 KEYWORDS	106
3.5 INTRODUCTION	107
3.6 MATERIALS AND METHODS	109
3.6.1 Sampling	109
3.6.2 Candidate and reference genes	111
3.6.3 Whole-body grinding	112
3.6.4 Total RNA extraction	112
3.6.5 Reverse transcription	112
3.6.6 Specific sequences and design of Taqman primers and probes	113
3.6.7 Real-time PCR assays and quantification	114
3.6.8 qPCR validation	116
3.6.9 Le Cren condition index and statistical analyses	116
3.7 RESULTS	117
3.7.1 Gene expression and salinity preference	117
3.7.2 Phenotypic traits	122
3.8 DISCUSSION	123
3.9 CONCLUSION	127
3.10 ACKNOWLEDGMENTS	128
3.11 REFERENCES	128

DISCUSSION GÉNÉRALE.....	137
RÉSULTATS DES PÊCHERIES	138
INDICE DE CONDITION CORPORELLE ET ÉTAT NUTRITIONNEL DES CIVELLES AU RECRUTEMENT	140
CARACTÉRISATION DES ÉCOTYPES AU RECRUTEMENT.....	142
VARIABILITÉ SPATIO-TEMPORELLE DES PHÉNOTYPES ÉCOTYPIQUES	146
MÉCANISMES PHYSIOLOGIQUES ET MOLÉCULAIRES SOUS-JACENTS AU RECRUTEMENT DES ÉCOTYPES.....	151
CHANGEMENT CLIMATIQUE ET CONSERVATION.....	158
PERSPECTIVES	160
ANNEXES.....	167
ANNEXE I.....	168
ANNEXE II	170
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	173

LISTE DES TABLEAUX

Table 1. Results of two-way ANOVA (River, Date, River × Date) on wet mass (g), length (mm), Le Cren condition index (Kn), glycogen content (µg mg-1 of wet mass), total lipids (µg mg-1 of wet mass), and relative proportions (% of total lipids) of triacylglycerols (TAG), phospholipids (PL), sterol and wax esters (SE-WE) in glass eels captured in two rivers (Mersey River: MR, Grande-Rivière-Blanche: GRB) at first arrival (MR 1, GRB 1) and at the next spring tide (MR 2, GRB 2).....	45
Table 2. Results of three-way PERMANOVA, average similarity, average dissimilarity, and dissimilarity contributions greater than 10% in lipid profiles.....	46
Table 3. ANOVA results for salinity preference for each river and date of capture on wet mass (g), length (mm), Le Cren condition index (Kn), glycogen content (µg mg-1 of wet mass), and total lipids (µg mg-1 of wet mass).....	47
Table 4. Information on primers and probes.....	78
Table 5. Results of permutational multivariate analysis of variance tests, PERMANOVA.....	82
Table 6. Relative contribution (until 100% cumulative contribution) of candidate genes to differences between rivers by one-way similarity percentage analysis (SIMPER).....	85
Table 7. List of the GenBank accession numbers identifying species' sequences used for primer design (forward [F] and reverse [R] primers are presented) used to sequence each gene before designing Taqman forward (F) and reverse (R) primers and probes (P) used for American eel (<i>Anguilla rostrata</i>) in quantitative polymerase chain reaction (qPCR) presented for each reference and candidate gene following by their qPCR efficiency	115
Table 8. Nombre d'individus capturés (n) par rivière (River), année (Year) et date d'arrivée (Sampling period et Batch) (Boivin <i>et al.</i> , 2015).....	139

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Exemple d'une variation clinale multilocus (droite) chez les jeunes stades d'une espèce sans isolation géographique <i>A. rostrata</i> , le long de la façade atlantique de l'Amérique du Nord (gauche) pour des gènes impliqués dans le métabolisme énergétique (Gagnaire et al., 2012).....	10
Figure 2. Tendances des températures moyennes en degrés Celsius par décennies entre les années 1971 à 2010 (a) des masses d'eau de surface de 0 à 700 m de profondeur et (b) des températures moyennes zonales selon la profondeur (Rhein <i>et al.</i> , 2013)	16
Figure 3. Salinité des eaux de surface au cours des 30 dernières années (Rhein <i>et al.</i> , 2013).....	16
Figure 4. Synthèse des principaux éléments prédits avec le changement climatique et des principaux effets potentiels prédits classés par niveaux d'organisation de la biodiversité (Bellard <i>et al.</i> , 2012)	17
Figure 5. Schéma des effets potentiels directs, flèches noires, et indirects, flèches grises, des processus sous-jacents de la diversité génétique sur les propriétés écologiques des populations, des communautés et des écosystèmes ainsi que ceux des effets de la sélection naturelle, flèches en pointillées (Hughes <i>et al.</i> , 2008).....	19
Figure 6. Cartographie de la distribution mondiale du genre <i>Anguilla</i> , épaisse ligne noire, et arbre phylogénétique des 16 espèces et 6 sous espèces de ce genre définies selon leur statut de conservation (IUCN, 2014) et leur groupe océanique, surlignées en bleu les anguilles tempérées pour les distinguer des anguilles tropicales (Modifiée d'Aoyama, 2009)	21
Figure 7. Aire de répartition mondiale d' <i>A. rostrata</i> , zone biogéographique en violet, et ses déplacements prévus depuis sa zone de frai, flèches rouges en pointillées (DFO, 2011).....	22
Figure 8. Cycle biologique simplifié d' <i>A. rostrata</i> (dates de recrutement : Laflamme <i>et al.</i> , 2012 ; Côté <i>et al.</i> , 2013 ; dates de reproduction : Wang et Tzeng, 2000).....	23

Figure 9. Tendances au déclin des indices des stocks des juvéniles des anguilles tempérées issus des données de débarquements du stock global pour <i>A. anguilla</i> et <i>A. japonica</i> et des données de recrutement du stock au lac Ontario pour <i>A. rostrata</i> (Modifiée d’Arai, 2014a)	27
Figure 10. River estuaries where glass eel were sampled for this study Grande-Rivière-Blanche (GRB), 48°47' N, 67°41' W; Mersey River (MR), 44°02' N, 64°42' W	40
Figure 11. Experimental design	41
Figure 12. Linear regression of the biometric relationship in American glass eel between length (mm) and wet mass (g) on an ln–ln axis.	42
Figure 13. Kruskal–Wallis results on pigmentation stage for each date (A) and each river (B) represented by boxplot figures. Asterisks indicate significant differences between rivers or dates of capture.	45
Figure 14. Glycogen (A), total lipid (B), triacylglycerol (TAG) (C), and sterol and wax ester (SE-WE) (D) contents in relation to the Le Cren condition index (Kn)	48
Figure 15. Average threshold cycle (C_T) for the normalized reference gene (geometric mean of individual C_T obtained for the three reference genes) for the two rivers (MR: Mersey River; GRB: Grande-Rivière-Blanche) and the two periods of capture in each river.	83
Figure 16. Multidimensional scaling (MDS) between rivers including data from the 40 individuals (10 per river and date of capture) based on the Bray-Curtis dissimilarity matrix	84
Figure 17. Profiles (means \pm SE) of the relative gene expression of bile salt activated lipase (BAL), triacylglycerol lipase (TAGL), glycogen phosphorylase (GPase), ghrelin (GHRL), and leptin receptor (LEP-R) target genes in glass eels captured in the Mersey River (MR) and Grande-Rivière-Blanche (GRB)	86
Figure 18. Map showing sampling sites and experimental design.....	110
Figure 19. Average threshold cycle (C_T) for the normalized reference gene (geometric mean of the C_T of the three reference genes) within each experimental group	118

Figure 20. Multidimensional scaling (MDS) of Bray-Curtis similarities from the gene expression database with vector plots.....	119
Figure 21. Relative changes in gene expression of nine candidate genes in glass eels captured in the Mersey River (MR), Rivière-St-Jean (RSJ), and Grande-Rivière-Blanche (GRB)	121
Figure 22. Biological trait measurements: (A) length, (B) wet mass, (C) Le Cren condition index, Kn, and (D) pigmentation stage.....	122
Figure 23. Schéma comparatif et récapitulatif des différents phénotypes reliés au métabolisme énergétique observés entre écotypes à l'échelle individuelle et moléculaire (Articles 1 et 2)	142
Figure 24. Schéma comparatif et récapitulatif des différents phénotypes physiques et moléculaires reliés à la croissance, métamorphose et l'osmorégulation entre écotypes et intra-écotype pour l'écotype d'eau douce (Article 3).....	144
Figure 25. Schéma comparatif et récapitulatif de la variabilité spatio-temporelle intra-générationnelle et intra et inter-écotype des phénotypes physiques, lipidiques et du glycogène total observés (Article 1)	146
Figure 26. Proposition des conséquences écophysiologiques d'un recrutement précoce et tardif (flèches pleines, mécanismes observés vs flèches pointillées, mécanismes suggérés).....	147
Figure 27. Proposition des mécanismes écophysiologiques et moléculaires sous-jacents au recrutement des écotypes eau salée/saumâtre et d'eau douce.....	153
Figure 28. Schéma représentant les différentes corrélations de Spearman calculées entre les niveaux d'expression génique pour l'ensemble des gènes étudiés.....	155
Figure 29. Proposition des mécanismes physiologiques et écologiques sous-jacents au recrutement des écotypes eau salée/saumâtre et d'eau douce.....	157

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

ADN (DNA)	Acide désoxyribonucléique
ANOVA	Analyse de variance
ALC	Alcool alipathiques libres
AMPL	Acetone-mobile polar lipids
ARN (RNA)	Acide ribonucléique
ARP	Acidic ribosomal protein
ATP	Adénosine triphosphate
BAL	Bile salt activated lipase
BW	Brackish water
CDS	Specific coding DNA sequences
cDNA	Complementary DNA
CCNUCC	Convention-cadre des Nations Unies sur les changements climatiques
COSEPAC (COSEWIC)	Le Comité sur la situation des espèces en péril au Canada
C_T	Cycle thresholds
CytB	Cytochrome B
ddNTPs	Dye-labeled dideoxynucleotide triphosphates

xxx

DFO	Fisheries and oceans Canada
DIO-2	Type 2-iodothyronine deiodinase
EF1	Elongation factor 1
ENSO	El Niño et southern oscillation
EST	Expressed sequence tag
F	Forward
FFA	Free fatty acids
FW	Fresh water
GPase	Glycogen phosphorylase
GH	Growth hormone
GH-R₁	Growth hormone receptor 1
GHRL	Grhelin
GRB	Grande-Rivière-Blanche
HC	Hydrocarbons
IGF-1	Insulin-like growth factor of type 1
IGF-1R	Insulin-like growth factor of type 1 receptor
IML	Institut Maurice Lamontagne, ministère des pêches et océans Canada
IUCN	Union internationale pour la conservation de la nature
KET	Ketones
Kn	Indice de condition de Le Cren

L	Length
LEP-R	Leptin receptor
MDS	Multidimensional scaling plot analysis
MR	Mersey River
mRNA	Messenger ribonucleic acid
MS222 (MS-222)	Sulfonate de tricaïne méthane
MTTP	Microsomal triacylglyceride transfer protein
NAO	North Atlantic oscillation
NSERC	Natural sciences and engineering research council of Canada
P	Probes
PCR	Réactions quantitatives en chaîne par polymérase
PERMANOVA	Analyse de la variance par permutation
PERMDISP	Tests of homogeneity of dispersions
PL	Phospholipids
PNA	Pacific-North American pattern
PROL	Prolactin
PUFA	Polyunsaturated fatty acids
qPCR	Réactions quantitatives en chaîne par polymérase à temps réel
R	Reverse
R²	Coefficient of determination

RAQ	Ressources aquatiques Québec
RIA	Radioimmunoassay
RSJ	Rivière-Saint-Jean
SE-WE	Sterol and wax esters
SIMPER	Similarity percentage analysis
SNP	Single-nucleotide polymorphism
SS	Sum of square
SW	Salt water
TAG	Triacylglycerols
TAGL	Triacylglycerol lipase
THRα_a	Thyroid receptors alpha a
THRα_b	Thyroid receptors alpha b
TSH-β	Thyroid-stimulating hormone β
Wm	Wet mass

INTRODUCTION GÉNÉRALE

« Alteration of genotype frequencies from generation to generation in a population is the central process of evolutionary change and the factors that can cause the frequencies to change are the cause of evolution » (Futuyma, 2013)

Le géologue écossais, Charles Lyell (1877), fut le premier scientifique à employer en 1832 le terme « évolution », pour désigner la façon progressive dont les espèces vivantes développent des caractères nouveaux. Depuis cette nouvelle définition, les pères fondateurs des théories de l'évolution tel que Chevalier de Lamarck, Charles Robert Darwin, Alfred Russel Wallace l'adoptèrent et l'utilisèrent dans leurs écrits pionniers. Un siècle plus tard (1940), les grands généticiens du XX^e siècle comme Sewal Wright, Ernst Mayr, George Gaylord Simpson, Julian Huxley fondèrent la biologie évolutive moderne ou aussi nommée le néodarwinisme, qui combine les concepts de la génétique mendélienne à l'échelle des populations. Cette discipline étudie les scénarios et les mécanismes évolutifs qui causent la diversité biologique et son axe central d'étude, lorsqu'elle est associée à l'écologie évolutive, est le rôle moteur que joue l'environnement dans la répartition spatiale de la biodiversité (extinction, dispersion, vicariance, adaptation, spéciation) (p. ex. Forester *et al.*, 2016). En effet, l'hétérogénéité de l'environnement et les mécanismes évolutifs modifient potentiellement d'une génération à l'autre, la structure allélique d'une **population**, c.-à-d. unité écologique et évolutive. En théorie, la loi de Hardy-Weinberg postule qu'au sein d'une population, les fréquences alléliques déterminent les fréquences génotypiques si la population est d'effectif illimité et non soumise aux pressions évolutives (p. ex. Henry et Gouyon, 2003). Par contre, si ces postulats ne sont pas respectés, on pourrait retrouver des sous-populations caractérisées par des structures génétiques différentes.

Les quatre forces évolutives sont **la sélection naturelle** (succès reproducteur différentiel pour lequel les allèles sont transmis de façon disproportionnée entre chaque génération), **la dérive génétique** (variation des fréquences alléliques due au hasard), **le flux génétique** (incursion de gènes issus d'autres populations), et **les mutations** (processus qui altèrent un gène ou un chromosome) (p. ex. Futuyma, 2013). En effet, la **sélection naturelle** peut agir en exerçant un « tri » des individus les plus aptes à survivre et à se reproduire, mais aussi de certains gènes pour lesquels de nouveaux allèles auraient pu être introduits sous les effets de **mutations**, du **flux génétique** et de **la dispersion** (Dingle et Drake, 2007 ; p. ex. Henry et Gouyon, 2003). Ainsi, la **sélection naturelle** aurait tendance à diversifier les fréquences alléliques dans la population alors que le **flux génétique** tendrait à les homogénéiser (p. ex. Hartl et Clark, 2007). L'évolution peut aussi être limitée par un manque de variations génétiques ou une forte plasticité phénotypique (p. ex. Le Corre et Kremer, 2012). Enfin, selon l'effectif de la population et de la fluctuation aléatoire, la **dérive génétique** fixe les génotypes dans une population (p. ex. Henry et Gouyon, 2003). De ce fait, les quatre forces évolutives ont de multiples effets, expliquent la diversité génétique et constituent la source fondamentale de la biodiversité (p. ex. Hughes *et al.*, 2008).

La création de diversité génétique au sein d'une espèce peut être un long processus. Elle peut débuter au niveau intra-populationnel par l'évolution d'un trait biologique en fonction de sa variation entre individus, de son héritabilité, de la corrélation de sa variance avec celle du succès reproducteur ou celle de la probabilité de survie des génotypes qui le portent (Fisher et Bennett, 1930). En effet, les populations naturelles expérimentent différentes histoires évolutives, font face à différents environnements (hétérogénéité spatiale et temporelle) auxquels elles pourraient potentiellement s'adapter et possèdent des caractéristiques démographiques particulières (c.-à-d. taille effective de la population, flux de gènes) (p. ex. Hansen *et al.*, 2012). Grâce à des processus adaptatifs à court et long terme, les populations peuvent répondre à la variabilité environnementale qu'elle soit naturelle ou anthropique (IFREMER, 2011).

MÉCANISMES IMPLIQUÉS DANS LES RÉPONSES ADAPTATIVES

Par définition, les réponses sont dites **adaptatives** lorsque la **valeur sélective** du génotype (c.-à-d. produit de la probabilité de l'espérance de survie du génotype par celle de l'espérance du nombre de descendants qu'il peut produire) en est augmentée et que ces réponses se caractérisent par des changements dans les fréquences alléliques (p. ex. Beldade *et al.*, 2011). L'augmentation de la valeur sélective du génotype n'est pas nécessairement synonyme de sa maximisation car la valeur sélective d'un individu dépend aussi de celle des autres individus (p. ex. Morris *et al.*, 2014). De ce fait, la sélection peut se traduire par une élévation relative de la valeur sélective moyenne de la population. Dans certains cas, au contraire, la sélection pourrait causer la disparition d'une population ou d'une espèce lorsque des traits qui défavorisent son évolution sont sélectionnés (Thomas *et al.*, 2010). Ainsi, la valeur sélective quantifie la propension d'un individu à propager ses gènes au sein de la population et la sélection naturelle favorise les individus, gènes ou traits à valeur sélective élevée.

LA PLASTICITÉ PHÉNOTYPIQUE

À court terme, les espèces vivantes s'**acclimatent** aux conditions environnementales changeantes en développant et en exprimant des traits particuliers qui ne sont pas créés par des changements génétiques (p. ex. Hansen *et al.*, 2012). Cette acclimatation résulte de la **plasticité phénotypique** et favorise la colonisation de nouveaux habitats (p. ex. Morris *et al.*, 2014). La plasticité phénotypique se définit comme la gamme des différents **phénotypes** (caractères observables) que peut prendre un **génotype** (caractères génétiques) donné, sous les effets de l'environnement (Pigliucci, 2001). Ainsi, les phénotypes plastiques changent quand les pressions environnementales changent. Les changements phénotypiques peuvent être d'ordre moléculaire (expression de gènes), physiologique, morphologique, comportemental et être spécifiques à un trait d'histoire de vie.

Ces changements peuvent apparaître à des niveaux d'organisation variés, à différents moments du développement, se présenter à des degrés variables et sous une grande variété de formes selon le trait et l'environnement donné, la capacité de dispersion et la durée de vie de l'espèce (Danchin *et al.*, 2008 ; Dufty *et al.*, 2002 ; Gomulkiewicz et Kirkpatrick, 1992 ; Hedrick *et al.*, 1976 ; Hill *et al.*, 2002 ; Janzen et Paukstis, 1991 ; Levins, 1963 ; Moran, 1992 ; Stern et Emlen, 1999 ; Van Tienderen, 1991). Par exemple, les individus qui se déplacent plusieurs fois au cours de leur vie dans des environnements hétérogènes exprimeraient d'avantage des formes plastiques réversibles – généralement des traits comportementaux et physiologiques – sans que leur morphologie en soit affectée (De Jong, 1999 ; Pfennig, 1992; Pigliucci, 2001). Les changements phénotypiques qui permettent de s'acclimater à un nouvel environnement requièrent que la perception de la variation environnementale soit fiable, synchrone et précise, que les phénotypes exprimés présentent un réel avantage sélectif et qu'ils n'induisent pas de contraintes relatives à d'autres traits (DeWitt, 1998 ; Pigliucci, 1996 ; Via et Lande, 1985). Dans le cas d'une plasticité adaptative idéale (absence de coûts et de contraintes biologiques), le génotype en présence d'un nouvel environnement, produirait le phénotype optimal qui se fixerait dans la population, sans différenciation génétique associée (p. ex. Kawecki et Ebert, 2004). Cependant, coûts et contraintes sont normalement présents, et donc différents « compromis » phénotypiques peuvent exister (p. ex. Ernande et Dieckmann, 2004 ; p. ex. Kawecki et Ebert, 2004). Ainsi, les champs d'expression des phénotypes possibles peuvent être limités. De ce fait, la plasticité phénotypique est définie par plusieurs composantes, soit la variance attribuée aux différences génétiques, celle attribuée aux influences environnementales et aux interactions gènes \times environnement (p. ex. Thomas *et al.*, 2010). Suivant la relation existante entre la valeur du trait et la valeur sélective des phénotypes, la sélection peut agir sur la variation des normes de réaction (p. ex. Via *et al.*, 1995). Elle peut être directionnelle pour des valeurs sélectives élevées (ou faibles) du caractère, stabilisante pour des valeurs intermédiaires mais qui maximisent la valeur sélective et, divergente pour des valeurs extrêmes (p. ex. Bergland *et al.*, 2014 ; p. ex. Le Corre et Kremer, 2012).

L'ÉVOLUTION ADAPTATIVE DE LA PLASTICITÉ PHÉNOTYPIQUE

La plasticité phénotypique peut être vue comme un processus qui limite l'évolution de la population, ou bien, selon d'autres auteurs, être à long terme, le moteur de la spéciation et de la diversification au sein des populations (p. ex. De Jong, 1995 ; p. ex. West-Eberhard, 2003). En effet, la sélection peut aussi agir sur les gènes qui produisent les réponses plastiques étant donné que ces dernières sont modulées par des composantes génétiques et des interactions gènes \times environnements (p. ex. Hansen *et al.*, 2012). L'une des premières études à avoir démontré l'existence d'un contrôle génétique sur la plasticité fut celle sur l'opéron du lactose chez *Escherichia coli* où le gène codant pour une enzyme qui dégrade le lactose ne s'activait qu'en présence de lactose (Jacob et Monod, 1961). Ce type de « conversion développementales » serait codé génétiquement par des « **gènes sensitifs** » ou des « **gènes de régulation de la plasticité** » (Pigliucci, 1996 ; Scheiner, 1993 ; Schlichting et Pigliucci, 1995 ; Schlichting et Pigliucci, 1998 ; Via, 1993). Les « gènes sensitifs » seraient sensibles aux variations environnementales et seraient à l'origine des différentes valeurs du phénotype (p. ex. gènes codant pour les protéines de stress). Les « gènes de régulation de la plasticité » interviendraient dans la réponse phénotypique en activant ou désactivant l'expression d'autres gènes structuraux *via* leur action sur les processus de méthylation de l'ADN (acide désoxyribonucléique), la chromatine, les micro-ARN (acide ribonucléique), les cascades hormonales, métaboliques ou enzymatiques (p. ex. Aubin-Horth et Renn, 2009 ; p. ex. Via *et al.*, 1995). Les cascades hormonales jouent notamment un rôle capital dans ces processus de régulation car elles traduisent l'information environnementale perçue par un changement approprié du phénotype (répartition tissulaire des récepteurs, densité des récepteurs, etc...) en activant ou inhibant certaines voies métaboliques (p. ex. Dufty *et al.*, 2002). Ainsi, ces mécanismes **épigénétiques** peuvent moduler et contribuer à la diversification des normes de réaction (p. ex. Aubin-Horth et Renn, 2009 ; p. ex. Baerwald *et al.*, 2015) mais aussi induire des variations génétiques non neutres en favorisant l'accumulation de variations génétiques cryptiques (héritables) induites sous des conditions environnementales ou génomiques

particulières (p. ex. mutations, recombinaisons, épistasie) (p. ex. Beldade *et al.*, 2011). Dès lors que ces variations cryptiques augmentent la valeur sélective, elles peuvent causer la divergence entre populations par des phénomènes d'**accommodation génétique** (valeur sélective du phénotype favorisée par l'environnement rencontré), de **compensation génétique** (le phénotype perd de sa sensibilité environnementale) ou d'**assimilation génétique** (fixation du phénotype adaptatif) (p. ex. Beldade *et al.*, 2011 ; p. ex. Hansen *et al.*, 2012 ; p. ex. Morris *et al.*, 2014 ; p. ex. Pfennig *et al.*, 2010). Par conséquent, la fixation du phénotype peut générer des **polyphénismes** (plusieurs formes différentes) mais aussi des variations génétiques intra-spécifiques, tels que des **écotypes** écologiquement et génétiquement distincts, qui à plus long terme, peuvent être impliquées dans les processus précurseurs de la spéciation comme la ségrégation spatiale et l'isolement reproductif (p. ex. Abbott et Comes, 2007 ; p. ex. Pfennig *et al.*, 2010).

Entre espèces qui ont un ancêtre commun, la plasticité phénotypique peut également promouvoir l'adaptation parallèle sous l'effet de la sélection (p. ex. Pfennig *et al.*, 2010 ; p. ex. Ralph et Coop, 2010). En effet, dès lors que des espèces ont en commun un trait d'histoire de vie, ce dernier peut évoluer de la même manière et parallèlement, car ce sont les mêmes gènes, le même groupe fonctionnel de gènes ou les mêmes mutations qui sont mobilisés (p. ex. Savolainen *et al.*, 2013). La plasticité joue un rôle car, elle augmente la persistance des individus dans des nouveaux environnements, augmente la variance phénotypique de générations en générations et permet la propagation et l'accumulation de mutations neutres au sein du génome. Des conditions environnementales particulières peuvent causer l'adaptation d'un même trait similairement chez plusieurs descendants et ces derniers peuvent former parallèlement des variantes « écotypes » et des variations clinales en réponse à des pressions de sélection similaires (p. ex. Drotz *et al.*, 2012; p. ex. Ralph et Coop, 2010). Ce type de mutations répétées est un phénomène qui s'observerait couramment dans les populations de grand effectif et lorsque la cible mutationnelle est grande (p. ex. Bailey et Bataillon, 2016 ; p. ex. Ralph et Coop, 2010). Ces mécanismes peuvent être déterministes pour l'évolution d'une population, même pour celles qui ont une reproduction **panmictique**, c.-à-d. association au hasard des gamètes.

L'ADAPTATION LOCALE

Il y a adaptation locale lorsque les individus développent sur le long terme des réponses adaptatives divergentes face aux fortes pressions de sélection imposées par l'hétérogénéité de l'environnement (p. ex. Le Corre et Kremer, 2012). Les populations adaptées localement peuvent former des unités discrètes pour des habitats bien délimités dans un environnement hétérogène – variation spatiale discrète –, ou des unités arbitraires le long d'un gradient environnemental – variation spatiale continue (p. ex. Kawecki et Ebert, 2004). L'adaptation locale serait ainsi la source principale des patrons spatiaux de biodiversité et de la spéciation sympatrique et allopatrique au sein des populations (p. ex. Forester *et al.*, 2016). Ce processus de différenciation génétique maintiendrait la variation génétique et le polymorphisme au sein des populations. En effet, un des prérequis dans l'adaptation locale est la présence d'interactions gènes \times environnement, et la présence de **pléiotropie antagoniste** (normes de réaction opposées) en serait la plus facilitante (p. ex. Kawecki et Ebert, 2004). La pléiotropie antagoniste suggère que l'adaptation pour différents habitats résulte de compromis. De ce fait, le polymorphisme est facilité sous les effets d'une sélection densité-dépendante (Hedrick, 1986 ; Karlin et Campbell, 1981), ainsi que lorsque la sélection s'opère à fine échelle et qu'elle agit sur des loci à larges effets (Albert *et al.*, 2008). Les loci à larges effets présentent une plus grande différenciation dans les fréquences alléliques sous les effets de la sélection et ont moins de chance d'être perdus sous les actions de la dérive génétique (Macnair, 1991). D'autre part, les traits adaptatifs qui favoriseraient l'adaptation locale devraient dépendre de l'influence de coûts et contraintes biologiques, montrer de la variance génétique et dans la plupart des cas, de la variance polygénique (Clausen *et al.*, 1940). L'évolution vers une adaptation locale serait beaucoup plus probable en présence de variations polygéniques, qu'en raison de phénomènes de mutation à un seul locus (p. ex. Le Corre et Kremer, 2012). Cependant, les effets des traits pléiotropiques sous sélection divergente ont été peu explorés.

La plupart des études sont basées sur des modèles d'état évolutif stable à un seul locus qui prédisent l'évolution de la spécialisation écologique pour un ou plusieurs traits quantitatifs dépendamment du coût et de la valeur sélective dans l'habitat considéré (Maynard Smith, 1982). La présence d'adaptation locale en raison d'une mutation sera influencée par le temps de génération de l'espèce, sa taille démographique, son mode de reproduction, son histoire évolutive et l'impact physiologique de la mutation (p. ex. Bailey et Bataillon, 2016). Finalement, un autre prérequis pour maintenir le polymorphisme et faciliter l'adaptation locale est la présence d'un faible flux de gènes, faible dispersion, forte fidélité à l'habitat (p. ex. Forester *et al.*, 2016 ; p. ex. Kawecki et Ebert, 2004) car en absence d'autres forces évolutives ou de contraintes biologiques, la sélection divergente génèrerait pour chacune des populations locales un avantage sélectif dans l'environnement utilisé (Williams, 1966). Dès lors, l'adaptation locale peut être limitée par les flux géniques ainsi que par une forte variabilité temporelle, un manque de variabilité génétique, et par une architecture génétique donnée (p. ex. Kawecki et Ebert, 2004). Finalement, les facteurs écologiques prédits pour favoriser l'adaptation locale sont une sélection forte sur les génotypes localement adaptés ou une sélection modérée sur les génotypes intermédiaires, une faible variation temporelle et une faible variabilité de la taille et de la qualité des habitats (p. ex. Kawecki et Ebert, 2004).

LA SÉLECTION SPATIALEMENT VARIABLE

Sous certaines conditions de variabilité environnementale, des stratégies **conditionnelles** induites sous les effets de l'environnement et des stratégies **inconditionnelles** induites sous des effets génétiques peuvent coexister au sein d'une même population polymorphique, car les jeunes stades expérimentent au cours des prémises de leur développement et de leur croissance des environnements spatialement discrets et contrastés (Lively, 1986). Les individus dont le développement s'acclimate aux conditions particulières de l'habitat discret occupé *via* le processus de conversion développementale, devraient avoir un meilleur un taux de survie quel que soit l'environnement occupé. À l'opposé, les individus dont le développement est génétiquement déterminé *via* le

processus de canalisation – production du même phénotype quelle que soit la variabilité de l'environnement et du génotype – auraient un taux de survie différentiel dans les environnements occupés (p. ex. Ingley *et al.*, 2014 ; Lively, 1986 ; Lucek *et al.*, 2014). L'existence de ces deux stratégies au sein d'une même population peut s'expliquer par la présence de compromis physiologiques ou développementaux, d'effets génétiques additifs de traits quantitatifs sous sélection (base génétique polygénique), d'une compétition intra-spécifique pour les ressources alimentaires, d'une colonisation aléatoire dans les habitats discrets, d'une forte probabilité que l'indice environnemental soit bien perçu et d'une conversion développementale en réponse à un seul indice environnemental (p. ex. Bergland *et al.*, 2014 ; p. ex. Fabian *et al.*, 2015 ; Grüneberg, 1952 ; Lively, 1986 ; p. ex. Storz et Kelly, 2008). Des coûts moyens associés à un fort indice environnemental favoriseraient la stratégie conditionnelle alors qu'un faible indice environnemental associé à un coût élevé ou faible favoriserait la stratégie inconditionnelle. Un tel contrôle à la fois génétique et environnemental maintiendrait le polymorphisme au sein des populations et perdurerait au cours des temps géologiques, et ceci d'autant plus si le signal biologique pour une large gamme d'habitats est bien corrélé à l'habitat rencontré. De ce fait, avec les temps géologiques, le changement de morphologie en réponse à un signal environnemental peut être rapide et permettrait d'éviter les mécanismes de spéciation ou d'évolution génétique (p. ex. Bergland *et al.*, 2014 ; Lively, 1986). Cependant dans certains cas, la sélection spatialement variable peut mener à l'adaptation locale notamment quand elle est continue ou très récente, quand les populations migratrices échangent des migrants ou quand ces dernières sont soumises aux actions de la dérive génétique (p. ex. Storz et Kelly, 2008 ; p. ex. Lively, 1986). L'adaptation locale sous sélection spatialement variable résulterait principalement de l'évolution des traits dépendamment des facteurs biotiques et abiotiques (p. ex. Bergland *et al.*, 2014). Ainsi, la sélection **fréquence-dépendante négative** est requise pour maintenir la stratégie génétiquement déterminée mais ne le serait pas pour maintenir celle qui est induite par des facteurs environnementaux (Lively, 1986).

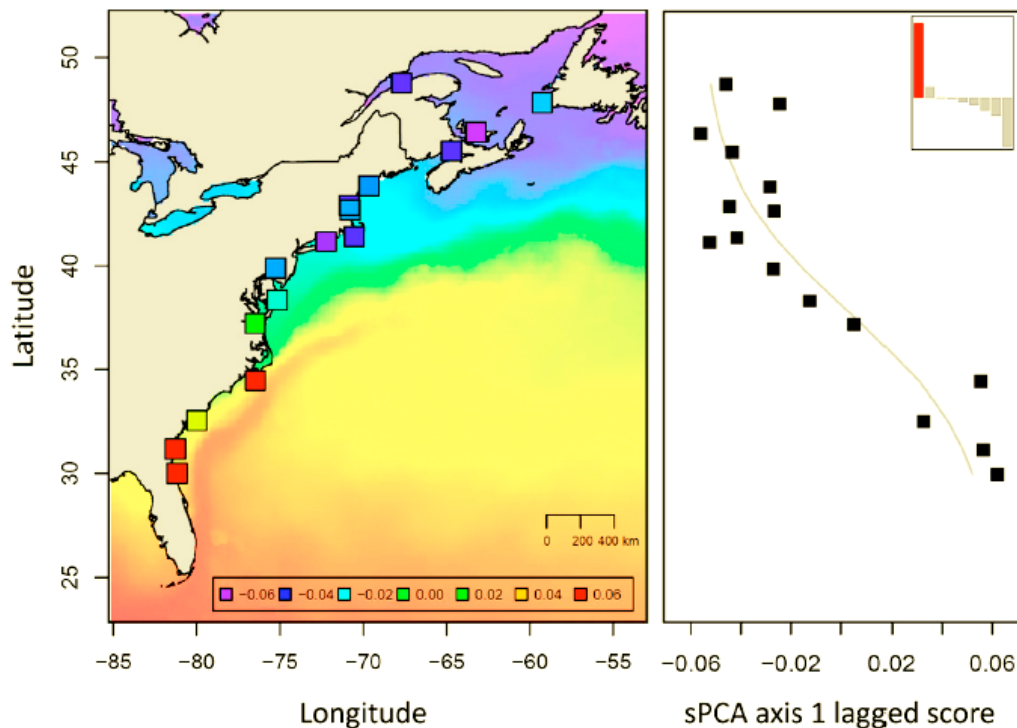


Figure 1. Exemple d'une variation clinale multilocus (droite) chez les jeunes stades d'une espèce sans isolation géographique *A. rostrata*, le long de la façade atlantique de l'Amérique du Nord (gauche) pour des gènes impliqués dans le métabolisme énergétique (Gagnaire *et al.*, 2012). Les carrés correspondent aux sites d'étude, leurs couleurs (gauche) aux scores de l'ACP (droite) et les températures représentées sur la carte (gauche) varient de 0,2 °C (violet) à 27,3 °C (rouge).

La sélection fréquence-dépendante négative signifie que la valeur sélective d'un trait qui dépend de sa fréquence dans la population polymorphique, diminue lorsque sa fréquence augmente (p. ex. Ricklefs *et al.*, 2005). L'adaptation locale sous sélection spatialement variable serait limitée en présence d'une variabilité temporelle à fine échelle, chez des populations à forte plasticité phénotypique et qui colonisent une grande variété d'habitats (Lively, 1986). Ces situations de contrôle à la fois environnemental et génétique sur le développement des individus, ont beaucoup été observées dans les modèles de **variations clinales**, changements graduels ou discontinus pour des caractères ou des fréquences alléliques le long d'un gradient environnemental sans isolation géographique (Figure 1) (p. ex. Gagnaire *et al.*, 2012 ; Adrion *et al.*, 2015 ; p. ex. Ingley *et al.*, 2014).

Dans ces environnements continuellement variables, les contraintes imposées par l'environnement n'imposeraient pas de compétition entre les phénotypes génétiquement induits et ceux plastiques, et leur coexistence maintiendrait le polymorphisme dans la population même lorsque la dispersion résulte d'un mélange complet du « pool » de gènes (Lively, 1986). Dans une telle situation panmictique, les différences entre les populations locales ne causeraient pas de différenciation génétique spatiale et temporelle et le mécanisme d'adaptation locale n'aurait pas opéré (p. ex. Kawecki et Ebert, 2004). Finalement, la persistance des deux stratégies conditionnelles et inconditionnelles dépend de plusieurs facteurs tels que la fréquence des habitats discrets dans l'environnement spatialement variable, de la fiabilité des indices environnementaux, des interactions intra- et interindividuelles, du coût relié au développement alternatif, et du taux de survie des différents morphes dans les différents habitats utilisés par les individus de la population (Lively, 1986). Enfin, la colonisation est le critère nécessaire pour que les différents développements induits soient évolutivement stables et que le mixage des deux stratégies soit à l'équilibre.

LES DIFFÉRENTS PATRONS GÉOGRAPHIQUES POPULATIONNELS

LES DIFFÉRENTS PATRONS

Pour récapituler, nous avons vu que la grande hétérogénéité de l'environnement peut modifier la composition génotypique des populations, la faire évoluer et créer différents patrons géographiques au sein de cette dernière. Dépendamment du potentiel évolutif de l'espèce nous avons vu que les principaux patrons géographiques intra-populationnels qui s'observent chez les populations naturelles sont : les **sous-espèces** ou variétés, les **populations à « cline »** et les **écotypes**. Ces variations ou subdivisions intra-populationnelles sont particulièrement liées à des conditions environnementales ou habitats donnés et sont génétiquement distinctes. Elles résultent des mécanismes adaptatifs, dont les principaux ont été présentés précédemment, mais dont le processus évolutif de spéciation n'a pas eu lieu ou n'a pas été totalement complété. Classiquement, ces patrons

géographiques se distinguent selon leur isolement reproductif et leur aire de distribution : ils peuvent être sympatriques s'ils partagent la même aire de distribution, parapatriques si leurs aires de distribution sont adjacentes et allopatriques si leurs aires de distribution sont séparées. Plus précisément, les évolutionnistes les ont distingués selon la fraction des individus échangés par génération, si celle-ci est égale entre les patrons il y a sympatrie, inégale et faible, parapatrie et enfin si elle est nulle, allopatrie (Mallet *et al.*, 2009). Les sous-espèces ou encore appelées variétés réfèrent aux populations géographiquement isolées. Les sous-espèces sont interfécondes et peuvent créer des hybrides (Moore et Price, 1993). Les variations dans les traits sont les plus prononcées chez les sous-espèces, patrons proches de la spéciation. Quant aux populations à « cline », elles reflètent des changements graduels pour des caractères ou des fréquences alléliques le long d'un gradient environnemental sans être isolées géographiquement (Oakeshott *et al.*, 1982). Le flux génétique permet généralement à ces populations de les prévenir d'une différenciation ou d'une spéciation. Contrairement aux populations à « cline », les écotypes sont vus comme le processus central ou une étape préliminaire de la spéciation (Abbott et Comes, 2007).

LES ÉCOTYPES, ÉTAPE PRÉLIMINAIRE DE LA DIFFÉRENCIATION

Plus précisément, un **écotype** est un groupe d'individus d'une population donnée dont les caractères observables sont génétiquement distincts et associés à un habitat ou à des conditions environnementales particulières (Turesson, 1922). Le terme « écotype » est employé très souvent dans la littérature et les écotypes se doivent d'être vigoureusement définis taxonomiquement, écologiquement et génétiquement surtout lorsqu'ils doivent faire l'objet d'un statut de conservation (Cronin et Mech, 2009). Les écotypes peuvent être adaptés physiologiquement à une grande variabilité de types d'habitats et de type d'environnements géographiquement distants, adjacents ou proches. Ils sont souvent distribués inégalement en « patch » ou en « mosaïque ». Les différences phénotypiques qui s'observent entre écotypes reflètent généralement des différences génétiques polygéniques, et celles au sein même d'un écotype, des effets environnementaux (Clausen *et al.*, 1940). En effet, la plupart des traits adaptatifs ont une architecture génétique polygénique (p. ex.

Hansen *et al.*, 2012). Ainsi, les patrons de variations écotypiques peuvent être facilement détectés en étudiant les différences phénotypiques entre individus qui suffisent à déceler la présence potentielle de variations génétiques au sein d'une population (Dobzhansky, 1970). Cependant, les variations phénotypiques de certains traits (p. ex. morphologiques) doivent être empiriquement évaluées pour démontrer des variations génétiques et expliquer les différences entre populations (Cronin et Mech, 2009).

La présence d'écotypes s'observe pour une grande variété d'espèces animales, végétales et même chez des organismes unicellulaires. Les causes évolutives y sont diverses. Chez les orques, *Orcinus orca*, des écotypes régionaux ont été distingués notamment pour l'utilisation de différentes ressources alimentaires : les résidents se nourrissent de poissons alors que les itinérants, de mammifères marins (Moura *et al.*, 2014). Ces mêmes auteurs ont démontré *via* des outils moléculaires que ces écotypes se différenciaient génétiquement pour des traits physiologiques relatifs à la digestion et que ces traits étaient fixés chez les écotypes sympatriques comparativement aux écotypes parapatriques. Il a été suggéré que ces patrons régionaux pourraient avoir résulté des phénomènes de sélection naturelle et de dérive génétique. Chez les caribous des bois du Canada, *Rangifer tarandus caribou*, la prédation a été démontrée comme étant la cause principale du déclin spatial préoccupant de l'écotype de montagne et de sa fragmentation en sous-populations isolées (Wittmer *et al.*, 2005). Dans cette étude, des données de radiotélémétrie et des mesures de taux d'histoire de vie (recrutement, gestation, mortalité) ont été utilisées pour arriver à une telle conclusion. Chez les loups gris d'Amérique du Nord, *Canis lupus*, des patrons d'adaptation locale pour des écotypes ont été différenciés génétiquement à partir du le génotypage SNP (Schweizer *et al.*, 2016). Malgré la possibilité de flux de gènes chez cette espèce très mobile, les outils moléculaires ont révélé une haute fidélité aux habitats natifs et une forte divergence entre les habitats (Schweizer *et al.*, 2016). Des preuves de sélection pour des gènes relatifs à la morphologie, la coloration de la robe, au métabolisme, l'ouïe, la vue ont été détectées, et les fréquences alléliques étaient fortement corrélées aux différentes conditions environnementales – excluant un possible effet de dérive génétique (Schweizer *et al.*, 2016). Chez le coléoptère

aquatique de Scandinavie, *Agabus bipustulatus*, le processus de divergence adaptative a été suggéré pour expliquer l'existence de deux écotypes locaux morphologiquement distincts et distribués selon l'altitude des régions paléarctiques (Drotz *et al.*, 2012). Les différences entre les écotypes se caractérisent pas des muscles plus développés chez l'écotype de plaine, alors que ceux de l'écotype de montagne seraient mieux adaptés aux vols réduits (Drotz *et al.*, 2012). Chez les mouches tsé-tsé riveraines de l'Afrique de l'ouest et centrale, *Glossina palpalis*, vecteurs principaux de la trypanosomiase, deux écotypes très divergents ont été distingués génétiquement (De Meeus *et al.*, 2015). D'après certains auteurs, ces deux écotypes devraient être considérés comme deux espèces et cette distinction permettrait une meilleure compréhension de cette maladie négligée. Chez l'orge sauvage, *Hordeum spontaneum*, des différenciations physiologiques et génomiques ont été distingués à partir des SNPs pour deux écotypes (Bedada *et al.*, 2014). L'écotype désertique contrairement à l'écotype côtier méditerranéen, dispose d'une meilleure capacité d'utilisation de l'eau, détenant des niveaux de contenu en eau plus élevés. Ainsi, l'écotype désertique aurait un fort potentiel pour la culture de variétés tolérantes au stress (Bedada *et al.*, 2014). Un dernier exemple est celui des cyanobactéries, *Prochlorococcus* (Zinser *et al.*, 2006). Des réactions quantitatives en chaîne par polymérase en temps réel (qPCR) ont révélé que les six différentes lignées de ce genre se révélaient être des écotypes et que leur distribution océanique était bien différenciée en termes de profondeur et de localisation (Zinser *et al.*, 2006). Ainsi, de multiples applications et mesures peuvent découler de l'étude des écotypes. Notamment, celle de renseigner sur les changements évolutifs qui s'opèrent à l'échelle de la population permettrait de prédire les mécanismes adaptatifs et les impacts écologiques potentiels pouvant altérer la biodiversité actuelle en réponse aux changements environnementaux globaux qui s'accélèrent et conduisent à une charge croissante des décès par sélection (p. ex. Hansen *et al.*, 2012; p. ex. Hughes *et al.*, 2008).

IMPACTS DES CHANGEMENTS ENVIRONNEMENTAUX GLOBAUX SUR LA BIODIVERSITÉ MARINE

« Which species and populations will not adapt fast enough ? This is a central question when forecasting the consequences of environmental changes » (Hansen *et al.*, 2012)

L'étude de la **biodiversité marine** exploitée, c.-à-d. la diversité du monde vivant marin à tous les niveaux d'organisation, a révélé que les facteurs anthropiques peuvent conduire à des changements évolutifs non négligeables sur les traits d'histoire de vie des populations et aussi, mener à un effondrement des stocks (Hutchings, 2000 ; Thiéroult, 2001). Les facteurs anthropiques majeurs qui affectent significativement la biodiversité sont : les changements climatiques globaux ; la surpêche et ses impacts collatéraux ; la pollution chimique et l'eutrophisation ; la destruction et la fragmentation des habitats ; et les invasions biologiques. Les effets potentiels des changements globaux sur la biodiversité marine ont beaucoup été étudiés *via* des modèles prédictifs. Les **changements climatiques globaux** sont définis comme étant les « changements du climat qui sont attribués directement ou indirectement à une activité humaine qui viennent s'ajouter à la variabilité naturelle du climat observée au cours de périodes comparables » d'après la Convention-Cadre des Nations Unies, CCNUCC (UNESCO, 2016). En effet, l'état des connaissances actuel fournit de plus en plus de preuves que les propriétés de l'océan ont été modifiées au cours des 40 dernières années en réponse aux changements climatiques globaux. Ces changements sont marqués dans l'océan par des modifications globales de la température, de la salinité, du niveau de l'eau, du pH et de l'oxygène (Rhein *et al.*, 2013). Les températures des masses d'eau et le transport de chaleur *via* la circulation thermohaline ont globalement augmenté. La température des eaux de surface (0 à 700 m de profondeur) a augmenté de 0,11 °C chaque décennie entre 1971 et 2010 (Figure 2). La salinité des eaux de surface de l'Atlantique a aussi augmenté alors que celle du Pacifique et de l'Antarctique a diminué et ceci depuis les années 1950. Le contraste de salinité entre ces régions s'élève à 0,13 entre les années 1950 et 2008 (Figure 3).

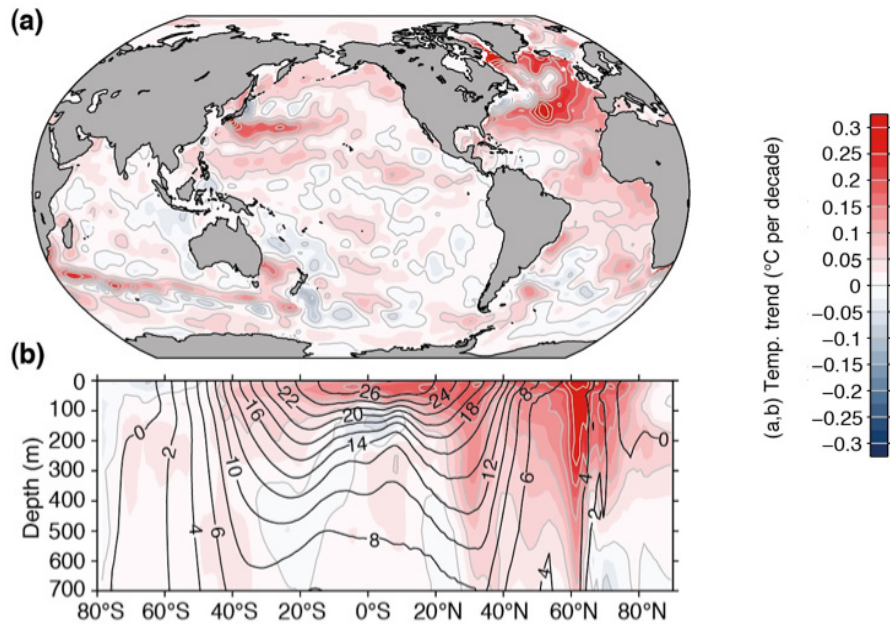


Figure 2 **Tendance des températures moyennes en degrés Celsius par décennies entre les années 1971 à 2010 (a) des masses eaux de surface de 0 à 700 m de profondeur et (b) des températures moyennes zonales selon la profondeur (Rhein *et al.*, 2013)**

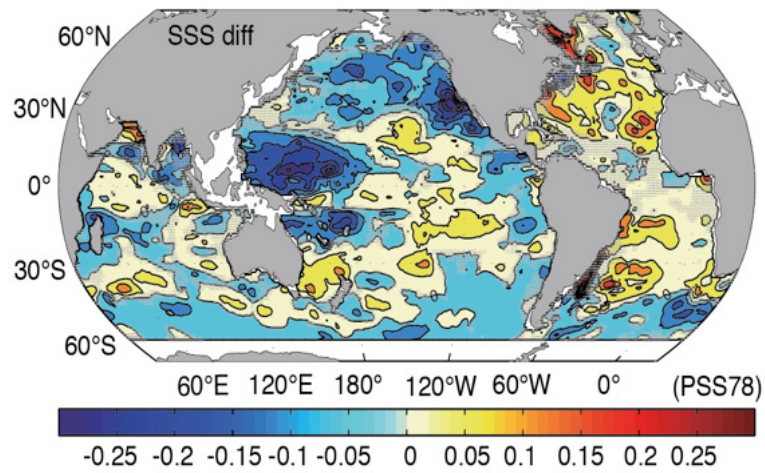


Figure 3 **Différence de la salinité des eaux de surface au cours des 30 dernières années (Rhein *et al.*, 2013)**

Quant au niveau marin, il a augmenté de 0,19 m entre 1901 et 2010. Le pH de l'océan s'est acidifié de 0,1 depuis le début de l'ère industrielle et l'oxygène dissous a diminué depuis les années 1960 dans les eaux supérieures de l'océan. Ainsi, la biodiversité marine en serait grandement affectée et ceci à tous les niveaux d'organisation (Figure 4).

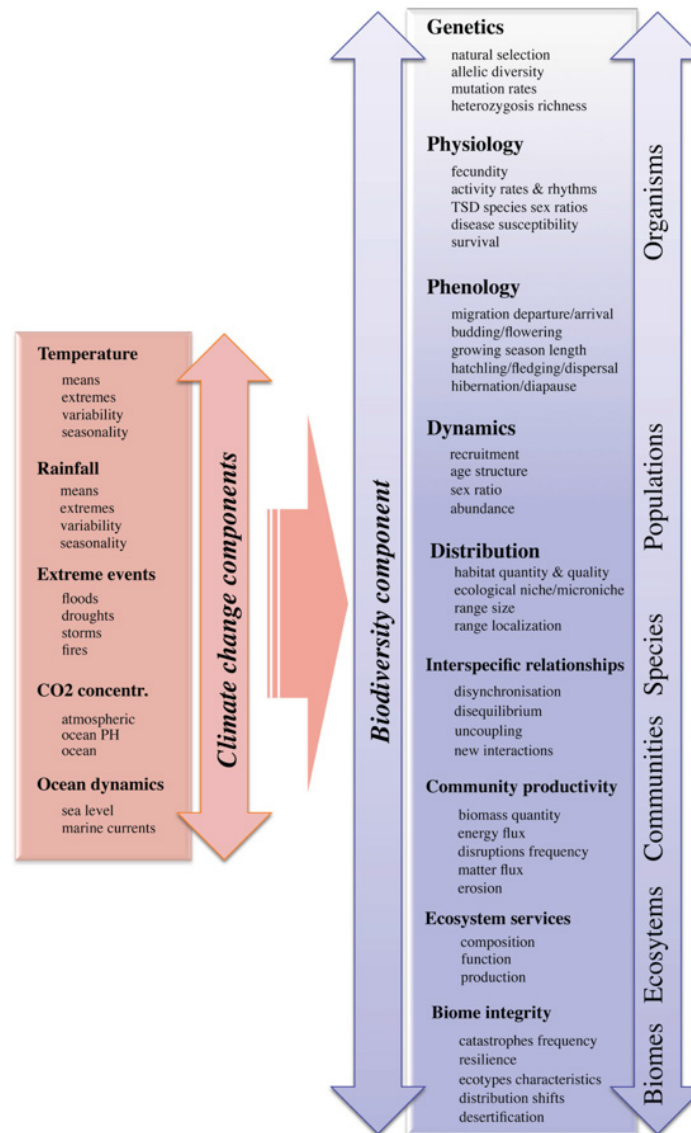


Figure 4 Synthèse des principaux éléments prédits avec le changement climatique et des principaux effets potentiels prédits classés par niveaux d'organisation de la biodiversité (Bellard *et al.*, 2012)

Des changements de productivité (réponses physiologiques), des aires de distribution (réponses spatiales) et de la phénologie (réponse temporelle) pour tous les niveaux d'organisation des espèces vivantes - individuel à écosystémique - sont attendus (Bellard *et al.*, 2012 ; Cheung *et al.*, 2008 ; Cheung *et al.*, 2013). Chez les poissons exploités, les derniers modèles prédisent que l'exploitation sélective intensive causerait l'augmentation dans les hautes latitudes et la diminution dans les basses latitudes des performances de croissance et de fécondité (Bielak et Power, 1986 ; Cheung *et al.*, 2008 ; Hansen *et al.*, 2012 ; Pörtner, 2001 ; Quinn *et al.*, 2007). La masse corporelle des poissons marins diminuerait de 14 à 24 % d'ici 2050 (Cheung *et al.*, 2013). Les prises potentielles des pêcheries augmenteraient de 30 à 70 % dans l'hémisphère nord et diminueraient de 40 % dans l'hémisphère sud d'ici 2055 (Cheung *et al.*, 2010). Des risques d'impacts régionaux sur les pêcheries et une importante variabilité locale des extinctions sur la biodiversité marine sont attendus (Gattuso *et al.*, 2015 ; Philippart *et al.*, 2011). Grâce à l'ensemble de ces nouvelles connaissances, l'océan et la biodiversité marine sont maintenant au cœur des enjeux climatiques sociétaux. Les liens fragiles entre les écosystèmes océaniques et les activités humaines ont été intégrés pour la première fois aux défis climatiques de la planète lors de la 21^{ème} conférence des Parties de la CCNUCC le 20 novembre 2015 à Paris où la commission océanographique intergouvernementale a fait état de l'urgence à maintenir la qualité des écosystèmes marins et à restaurer ceux qui se dégradent dans chaque état membre (UNESCO, 2016). Le défi scientifique actuel serait de dresser un tableau plus complet des réponses biologiques face aux changements anthropiques. Certains auteurs préconisent d'intégrer un plus grand nombre de variables dans les études comme la salinité, les interactions biotiques, la dynamique de population, les effets génétiques ainsi que le potentiel adaptatif et migratoire des espèces (Bellard *et al.*, 2012 ; Cahill *et al.*, 2012 ; Cheung *et al.*, 2008). En effet, les mécanismes de l'évolution peuvent altérer le niveau de diversité génétique et peuvent affecter à des niveaux d'organisation supérieurs la dynamique de population, les interactions entre espèces et les processus écosystémiques surtout lorsque ces variations affectent des traits écologiques comme le taux de croissance et la fonction immunitaire (Figure 5) (Hughes *et al.*, 2008).

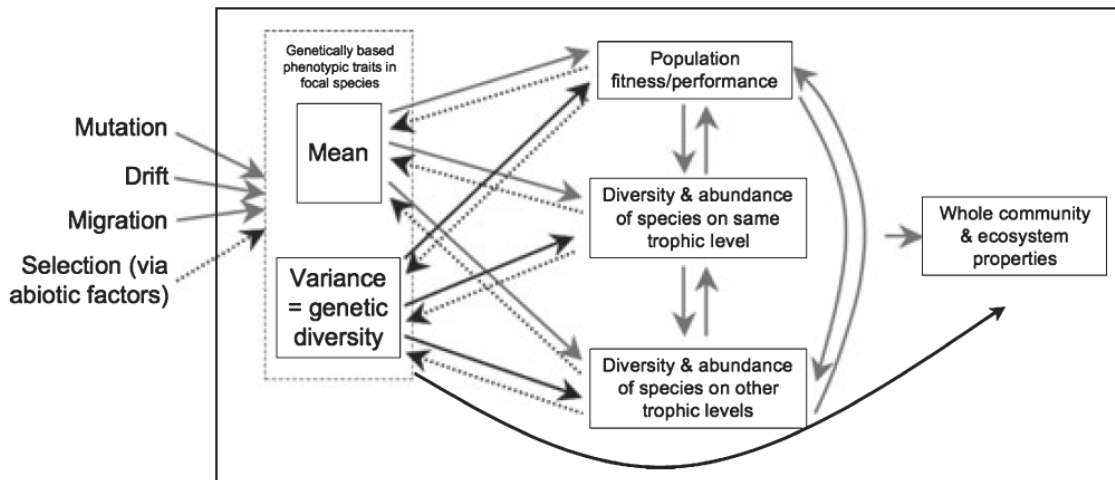


Figure 5 Schéma des effets potentiels directs, flèches noires, et indirects, flèches grises, des processus sous-jacents de la diversité génétique sur les propriétés écologiques des populations, des communautés et des écosystèmes ainsi que ceux des effets de la sélection naturelle, flèches en pointillées (Hughes *et al.*, 2008)

Dans une perspective de conservation, il est important de distinguer si ces changements évolutifs sont à long ou court terme, génétiques ou plastiques, car la résilience d'une population, surtout celle de petite taille ou celle en voie de disparition, serait plus lente s'il s'agit de changements génétiques (Conover, 2000 ; Frankham *et al.*, 2002 ; Hansen *et al.*, 2012 ; Lande, 1988 ; Law, 2000). Bellard *et al.* (2012) mettent l'accent sur le fait que les conséquences évolutives n'ont été étudiées que sur un nombre limité d'espèces alors que la question fondamentale avec les changements environnementaux globaux est de savoir quelles espèces seraient en mesure de s'adapter rapidement physiologiquement, spatialement et temporellement et de quelle façon elles s'adapteront. Une meilleure évaluation de la vulnérabilité des espèces, des habitats et des régions face aux différentes composantes anthropiques aiderait à mieux évaluer la perte réelle de biodiversité et les conséquences évolutives des effets anthropiques.

NOTRE MODÈLE : L'ANGUILLE D'AMÉRIQUE, *ANGUILLA ROSTRATA*

« Kat* (*A. rostrata*, Mi'kmaq) can be used to tell us about the health of both the oceanic and inland water systems. We should listen more to the animals...» (Prosper et Paulette, 2003 ; cité par MacGregor *et al.*, 2008)

Anguilla rostrata (Lesueur, 1817) appartient à l'un des 146 genres des 19 familles de l'ordre des Anguilliformes – superordre des Élopomorphes, taxon des Téléostéens (Inoue *et al.*, 2010 ; Johnson *et al.*, 2011). Sur les 819 espèces de cet ordre, seules les anguilles appartenant au genre *Anguilla* sont des poissons migrateurs **diadromes** (McDowall, 1997) à migrations **catadromes facultatives**, c.-à-d. migration génésique en mer et migration trophique des jeunes stades dans les milieux aquatiques côtiers et continentaux. En effet, l'analyse des microstructures des otolithes des *Anguilla*, le suivi télémétrique acoustique d'*A. rostrata* ou les analyses isotopiques des muscles des civelles d'*A. anguilla* indiquent que la migration trophique en eau douce des *Anguilla* ne serait ni systématique, ni obligatoire (Arai *et al.*, 2000 ; Arai *et al.*, 2004 ; Bardonnnet et Riera, 2005 ; Béguer-Pon *et al.*, 2015a ; Benchetrit *et al.*, 2015 ; Cairns *et al.*, 2004 ; Chino et Arai, 2009 ; Chino et Arai, 2010 ; Clément *et al.*, 2014 ; Daverat *et al.*, 2005 ; Daverat *et al.*, 2006 ; Jessop *et al.*, 2002 ; Jessop *et al.*, 2006 ; Jessop *et al.*, 2008 ; Jessop *et al.*, 2012 ; Lamson *et al.*, 2006 ; Thibault *et al.*, 2007 ; Tsukamoto et Arai, 2001 ; Tsukamoto *et al.*, 1998 ; Tzeng *et al.*, 2003). Cette caractéristique écologique serait inhérente à l'histoire évolutive des *Anguilla* qui s'est modelée depuis le Cénozoïque (≈ 50 Ma) à des variations environnementales très contrastées (p. ex. Aoyama, 2009 ; Johnson *et al.*, 2011). L'origine de leur spéciation ferait suite à l'évolution de leurs déplacements spatio-temporels depuis la zone ouest Pacifique en circuits migratoires vers les zones marines tropicales, puis progressivement, vers les eaux douces des hautes latitudes (Gross *et al.*, 1988 ; Inoue *et al.*, 2010 ; Johnson *et al.*, 2011 ; Tsukamoto *et al.*, 1998). La capacité à résider dans un milieu salé/saumâtre a été suggérée comme pouvant être due à la conservation de ces traits ancestraux (p. ex. Aoyama, 2009).

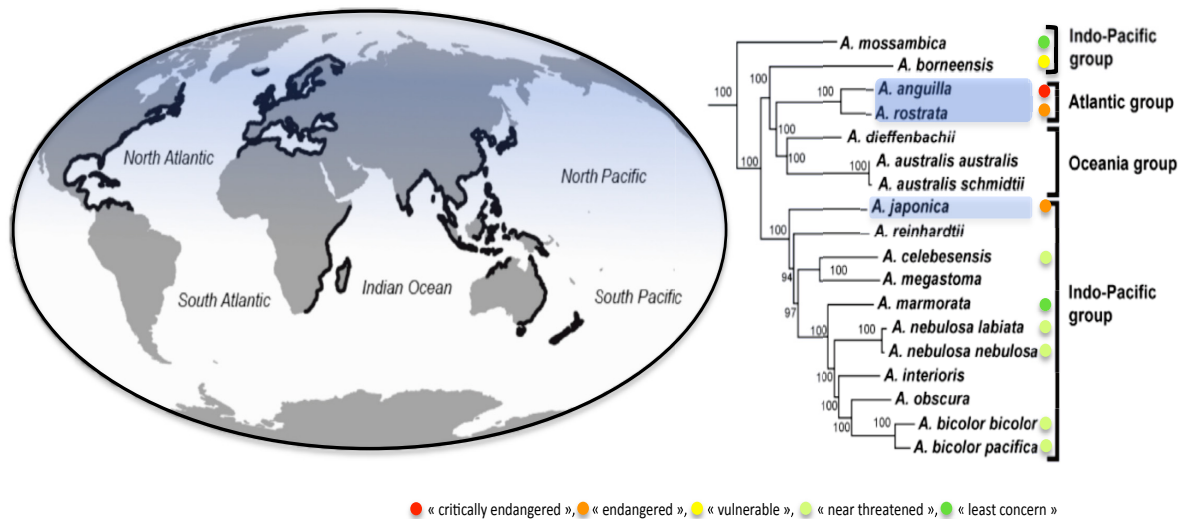


Figure 6 Cartographie de la distribution mondiale du genre *Anguilla*, épaisse ligne noire, et arbre phylogénétique des 16 espèces et 6 sous espèces de ce genre définies selon leur statut de conservation (IUCN, 2014) et leur groupe océanique, surlignées en bleu les anguilles tempérées pour les distinguer des anguilles tropicales (Modifiée d'Aoyama, 2009)

Les *Anguilla* se répartissent dans tous les océans excepté ceux de l'Atlantique sud, le Pacifique est et les régions polaires et *A. rostrata* est l'unique représentante nord-américaine des 16 espèces d'anguilles migratrices (Figure 6) (p. ex. Aoyama, 2009 ; COSEPAC, 2006 ; Inoue *et al.*, 2010). Dans cette thèse, il sera souvent fait état de l'avancement des connaissances des espèces du genre *Anguilla*, en fonction soit de leur groupe océanique soit de leur zone climatique d'appartenance. Les anguilles tempérées, et notamment les anguilles atlantiques, effectuent les plus longues migrations transocéaniques parmi le genre *Anguilla* depuis les gyres subtropicales (Arai, 2014b ; Kuroki *et al.*, 2006). L'**aire de répartition mondiale** d'*A. rostrata* est considérable, s'étend sur plus de 50 degrés de latitude (5° à 63°) et révèle la grande **eurythermie** d'*A. rostrata* qui fréquente les régions subarctiques, tempérées à tropicales (COSEPAC, 2006) (Figure 7).



Figure 7 Aire de répartition mondiale d'*A. rostrata*, zone biogéographique en violet, et ses déplacements prévus depuis sa zone de frai, flèches rouges en pointillées (DFO, 2011)

SON CYCLE BIOLOGIQUE

Le cycle biologique d'*A. rostrata* est ainsi rythmé par ses **migrations catadromes facultatives** qu'elle effectue à des moments précis de son cycle de vie depuis la **mer des Sargasses** (Figure 8). Son aire de ponte qui se chevauche avec celle d'*A. anguilla* fut authentifiée par l'océanographe Schmidt en 1922. Depuis, elle a été localisée à proximité de l'origine du Gulf Stream (Béguer-Pon *et al.*, 2015b) et du Contre Courant Subtropical, entre 24° et 28° nord et 70° et 64° ouest et, au sud, serait délimitée par deux fronts thermiques créés par l'inclinaison de la thermocline, phénomène récurrent dans la Zone de Convergence Tropicale (Munk *et al.*, 2010).

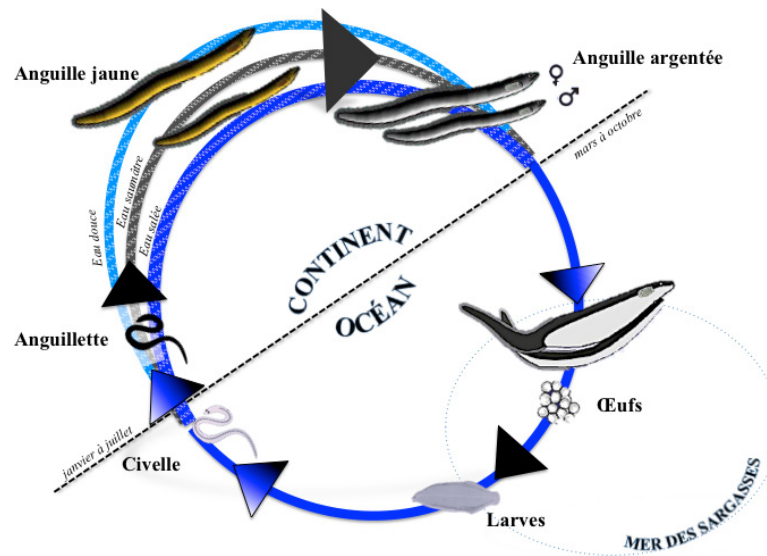


Figure 8 Cycle biologique simplifié d'*A. rostrata* (dates de recrutement : Laflamme *et al.*, 2012 ; Côté *et al.*, 2013 ; dates de reproduction : Wang et Tzeng, 2000)

Les œufs planctoniques se développent en larves **proleptocéphales** qui elles-mêmes se développent en larves **leptocéphales**. Les fronts thermiques présents dans l'aire de ponte retiendraient les leptocéphales d'*A. rostrata* majoritairement à l'ouest et celles d'*A. anguilla* majoritairement à l'est de cette aire et la zone de mélange située entre 50 et 200 m de profondeur serait une zone de nourricerie (Als *et al.*, 2011 ; Munk *et al.*, 2010). Les larves d'*A. anguilla* prendraient le Contre Courant Subtropical, les courants des Açores alors que celles d'*A. rostrata*, les courants des Antilles, de Floride jusqu'aux courants du Gulf Stream et d'Atlantique Nord (Tesch, 2003). La leptocéphale se déplacerait selon une nage directionnelle considérant le temps de migration transocéanique et la répartition des juvéniles d'*A. rostrata* dans leur aire de distribution (Rypina *et al.*, 2014), ce qui pourrait expliquer pourquoi une proportion non négligeable d'hybrides peuple précisément l'Islande (Albert *et al.*, 2006 ; Als *et al.*, 2011 ; Gagnaire *et al.*, 2009 ; Gagnaire *et al.*, 2012). De plus, les champs géomagnétiques des fonds océaniques pourraient servir de repères pour sa navigation (Perivier, 2015 ; Souza *et al.*, 1988).

À la fin de sa première périlleuse migration transocéanique en direction des zones côtières est de l'Amérique du Nord, la leptocéphale se métamorphose en **civelle** après une période variable en mer évaluée en moyenne à 200 jours (171 à 365 jours) d'après l'analyse de la microstructure des otolithes (Arai *et al.*, 2000 ; Wang et Tzeng, 2000). Une taille minimale (50 mm) ainsi que la privation de nourriture pourrait être les déclencheurs de sa métamorphose en civelle (Okamura *et al.*, 2012). La civelle, supposée à jeun, amorce la deuxième migration de son cycle en nageant activement en direction d'un habitat trophique continental et les mécanismes sous-jacents à la sélection de cet habitat sont peu compris. Celles qui remontent une rivière, utilisent le transport tidal sélectif et doivent effectuer la transition physiologique importante de l'hypoosmorégulation en eau salée à l'hyperosmorégulation en eau douce (Wilson *et al.*, 2004 ; Wippelhauser et McCleave, 1988). Les civelles qui atteignent l'eau douce du fleuve Saint-Laurent (Québec) nageraient 1 000 km à une vitesse de 10 à 15 km par jour (Dutil *et al.*, 2009). Le recrutement de la civelle et les patrons de ses déplacements durant sa montaison dépendraient de multiples facteurs écologiques (Bardonnnet *et al.*, 2005 ; Barry *et al.*, 2015 ; Briand *et al.*, 2005 ; Desaunay et Guerauld, 1997 ; Dutil *et al.*, 2009 ; Ford et Mercer, 1986 ; Geffroy *et al.*, 2015 ; ; Harrison *et al.*, 2014 ; Linton *et al.*, 2007 ; Martin, 1995 ; Nishi et Kawamura, 2005 ; Politis *et al.*, 2014 ; Sullivan *et al.*, 2006 ; Sullivan *et al.*, 2009 ; Vélez-Espino et Koops, 2010 ; Wang *et al.*, 2014 ; Wippelhauser et McCleave, 1987, Wippelhauser et McCleave, 1988). Elle se pigmente graduellement durant sa migration (20 à 160 jours) dépendamment de la température de l'eau rencontrée (Briand *et al.*, 2005 ; Haro et Krueger, 1988). Lorsque la civelle devient entièrement pigmentée à la fin de sa migration, elle est appelée anguilette.

Au cours de sa phase de croissance, l'**anguilette** prend une coloration jaunâtre et devient **anguille jaune**. L'anguille en phase de croissance peut être trouvée soit dans un milieu d'eau douce (rivières, lacs), soit dans un milieu salin (saumâtre et salé, estuaires, lagunes, marais, zone côtières) et peut se déplacer au sein de ces deux types de milieu conformément à sa catadromie facultative. Ainsi dans la littérature, il est courant de lire anguille de rivière (« river eel »), anguilles d'estuaire (« estuarine eel »),

anguille de mer (« sea eel ») ou anguille nomade (« nomade eel », « nomadic movements »). Au Canada, *A. rostrata* occupe les Grands-lacs-Ouest du Saint-Laurent à l'Arctique de l'Est (COSEPAC, 2012). Cette flexibilité migratoire révèle la grande **euryhalinité** et **ubiquité** d'*A. rostrata*. Après une période variable de 5 à 30 ans et l'atteinte de la taille à maturité sexuelle, l'anguille jaune se métamorphose en **anguille argentée** et subit des modifications anatomo-physiologiques importantes (Tesch, 2003).

La migration génésique des anguilles argentées d'*A. rostrata* et le risque de sa prédation depuis les côtes canadiennes a été dernièrement documentée (Béguer-Pon *et al.*, 2012 ; Béguer-Pon *et al.*, 2014 ; Béguer-Pon *et al.*, 2015b ; Béguer-Pon *et al.*, 2016). La reconnaissance du site de frai serait rendue possible par les indices de la variation de la circulation thermohaline et le serait d'autant plus grâce à leur capacité de reconnaissance géomagnétique (Béguer-Pon *et al.*, 2015b ; Durif *et al.*, 2013 ; Souza *et al.*, 1988 ; Tesch, 1974 ; Wu et Dickman, 2012). L'anguille argentée qui s'est différenciée sexuellement regagne la mer vers son unique zone de frai, la mer des Sargasses, pour se reproduire. Le système de reproduction d'*A. rostrata* est particulier car il est **selmelpare** (mort après la reproduction) et **panmictique** (Côté *et al.*, 2013). La panmixie signifie que tous les individus de l'espèce forment une seule et même population sur l'ensemble de son aire de répartition autrement dit que le degré de différenciation génétique spatiale et temporelle est nul, et ceci malgré la grande hétérogénéité environnementale que les individus expérimentent tout au long de leur vie (Côté *et al.*, 2013). Les **événements de reproduction** des anguilles atlantiques n'ont jamais été observés en nature bien que les scientifiques s'y intéressent depuis l'Antiquité (p. ex. Oliveira et Hable, 2010). Cependant, l'écologie de leur reproduction et les traits d'histoire de vie à maturité sexuelle ont été documentés (COSEPAC, 2012 ; Côté *et al.*, 2015 ; Jessop, 2010 ; Jessop *et al.*, 2004 ; Munk *et al.*, 2010 ; Tsukamoto *et al.*, 2011). De plus, l'induction in vivo de la maturation sexuelle ainsi que des fécondations in vitro d'anguilles adultes ont rendu possible l'observation de l'embryogénèse des anguilles jusqu'à la production de civelles en élevage (Dollerup et Graver, 1985 ; Kagawa *et al.*, 2005 ; Oliveira et Hable, 2010 ; Tsukamoto *et al.*, 2011).

SON STATUT DE CONSERVATION

A. rostrata est bio-indicatrice de la qualité des milieux marins et elle est vectrice des flux énergétiques entre l'eau douce et l'océan, lui conférant une grande valeur écologique (p. ex. Helfman, 2007 ; Willson et Halupka, 1995). Elle est également de grande valeur économique et culturelle au Canada et son exploitation est basée à 90 % sur des prises d'anguilles sauvages (p. ex. Jacoby *et al.*, 2015 ; Kuroki *et al.*, 2014). Cependant, depuis la dernière glaciation, la taille effective de la population d'*A. rostrata* s'est contractée et cette contraction s'est accélérée depuis les années 1980 (Wirth et Bernatchez, 2003). Considérant sa catadromie facultative, ses stades de vie variés, sa semelparité, sa panmixie, son aire de ponte dissimulée et son aire de répartition, *A. rostrata* pose des problèmes particuliers de conservation (IUCN, 2014 ; Wirth et Bernatchez, 2003). Tous ses stades de vie font face à de multiples menaces anthropiques tant régionales que globales et dont les principales au niveau local sont la contamination chimique, la perte et la dégradation des habitats, et au niveau global, la surpêche et la surexploitation (Arai, 2014a ; Baillon *et al.*, 2015 ; Benchetrit et McCleave, 2015 ; Bevacqua *et al.*, 2015 ; Byer *et al.*, 2015 ; Castonguay *et al.*, 1994a ; Hanel, 2014 ; Hodson *et al.*, 1994 ; Jacoby *et al.*, 2015 ; MacGregor *et al.*, 2008 ; Rigaud *et al.*, 2016 ; Sweka *et al.*, 2014 ; Zhaoqun *et al.*, 2015). Étant panmictique, le taux d'émigration des anguilles argentées d'un pays ou d'une région donnée n'est pas directement corrélé au taux de recrutement au stade civelle. De ce fait, un déclin généralisé des indices d'abondance des leptocéphales, de recrutement des civelles, des populations d'anguillettes et anguilles jaunes et d'émigration des anguilles argentées s'observe de manière simultanée sur trois générations (Figure 9) (Arai, 2014a ; Cairns *et al.*, 2014 ; De Lafontaine *et al.*, 2010 ; IUCN, 2014 ; MacGregor *et al.*, 2008).

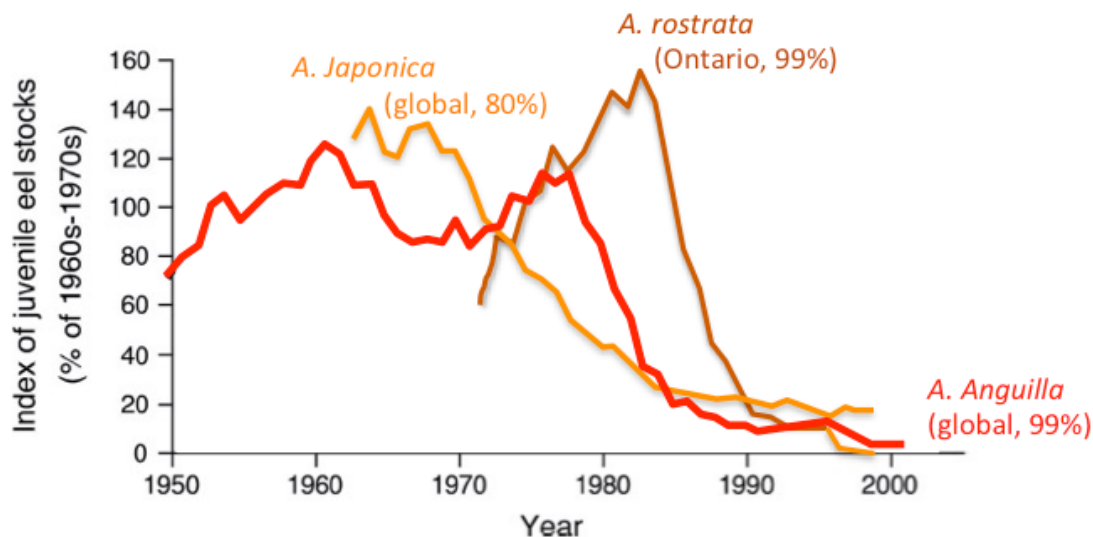


Figure 9 Tendances au déclin des indices des stocks des juvéniles des anguilles tempérées issus des données de débarquements du stock global pour *A. anguilla* et *A. japonica* et des données de recrutement du stock au lac Ontario pour *A. rostrata* (Modifiée d’Arai, 2014a)

Au Canada, le déclin est dramatique dans la région hydrographique des tributaires qui se jettent dans l’estuaire et le golfe du Saint-Laurent. En effet, il est évalué à 99 % depuis les années 1980 alors que cette région est curieusement peuplée exclusivement d’anguilles d’eau douce et des plus grandes et fécondes femelles (croissance lente, 1 m de longueur, âge à maturité sexuelle de 20 ans) comparativement aux autres régions de l’Amérique du Nord (Cairns *et al.*, 2014 ; Castonguay *et al.*, 1994b ; Dekker et Casselman, 2014 ; Lamson *et al.*, 2009). Conséquemment, un moratoire a été appliqué sur les pêcheries au Canada en 2006 et 4 millions de civelles et anguillettes de la Nouvelle-Écosse ou du Nouveau-Brunswick ont été réimplantées sur quatre années dans l’estuaire maritime du Saint-Laurent et au lac Ontario (Reid et Hogg, 2014). De plus, *A. rostrata* a été désignée par le Comité sur la situation des espèces en péril au Canada d’« espèce préoccupante » en 2006. Malgré ces mesures de conservation, le statut de conservation d’*A. rostrata* est devenu de plus en plus alarmant. Ce même comité l’a désignée en 2012 comme « espèce menacée ». Puis en 2014, l’Union internationale pour la conservation de la nature, IUCN, l’a incluse dans sa liste rouge en tant qu’« espèce en danger ».

Le déclin généralisé des *Anguilla* ainsi que la constatation générale selon laquelle les individus tendent à se « mariner », a pour effet que la majeure partie des espèces *Anguilla* sont inscrites sur la liste rouge de l'IUCN et que l'exploitation des anguilles tempérées ne pourra pas être soutenue par le stock des anguilles tropicales (Arai, 2014a ; COSEPAC, 2006 ; COSEPAC, 2012 ; IUCN, 2014).

QUESTIONNEMENT

Les mesures de conservation appliquées en 2006 à *A. rostrata* au Canada assumaient que sa catadromie facultative était une stratégie de dispersion conditionnelle sous le contrôle des mécanismes de la plasticité phénotypique, comme cela avait été auparavant suggéré pour *A. anguilla*. Cependant, les données à grande échelle spatiale d'électropêche ont révélé que les traits d'histoire de vie des anguilles transplantées, p. ex. petite taille, colonisation des zones en aval, différaient de ceux des anguilles indigènes au Saint-Laurent (Jacoby *et al.*, 2015 ; Pavey *et al.*, 2015 ; Reid et Hogg, 2014). Ainsi, l'action seule de la plasticité phénotypique dans la sélection de l'habitat est remise en question. De ce fait, les mécanismes sous-jacents à la catadromie facultative et aux traits d'histoire de vie chez *A. rostrata* ne sont toujours pas expliqués et soulèvent des questions biologiques fondamentales sur son potentiel adaptif. Ainsi, les différences phénotypiques interindividuelles observées ultérieurement en terme de statut physiologique et endocrinien, de facteur de condition, de taux de croissance, de densité, de longueur et âge à maturité sexuelle, de sexe/ratio et de fécondité ne peuvent pas seulement être attribuées à des différences plastiques (Cairns *et al.*, 2014 ; Castonguay *et al.*, 1990 ; Ford et Mercer, 1986 ; Jessop *et al.*, 2004 ; Lamson *et al.*, 2009 ; Oliveira, 1999). Ces variations interindividuelles varient autant à fine qu'à grande échelle, graduellement le long de l'aire de répartition que localement selon la salinité de l'habitat trophique de croissance laissant présager que ces variations sont le reflet de l'interaction des effets génétiques et de l'environnement sous sélection spatialement variable (Côté *et al.*, 2009 ; Côté *et al.*, 2014 ; Côté *et al.*, 2015 ; Gagnaire *et al.*, 2011 ; Laflamme *et al.*, 2012).

Objectifs de recherche

OBJECTIF GÉNÉRAL

L'objectif général de ce projet doctoral s'inscrit dans les objectifs d'un vaste projet stratégique édifié pour une gestion éclairée de l'exploitation d'*A. rostrata* au Canada et d'un recouvrement amélioré de ses stocks par région et par habitat de salinité donnée. Ce projet stratégique cherchait à identifier les déterminismes biologiques et environnementaux des habitats côtiers et d'eau douce chez *A. rostrata* sous plusieurs aspects (écologique, démographique, moléculaire, comportemental et physiologique) afin d'élucider les bases sous-jacentes à la catadromie facultative. Ce projet stratégique s'est fait en étroite collaboration avec différents laboratoires, institutions et professionnels des pêches (Université de Laval, Institut de biologie intégrative et des systèmes, Ressources Aquatiques Québec, ministère des Pêches et des Océans du Canada, ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs, Atlantic Elver Fishery) dont les membres (huits chercheurs, quatre étudiants) se sont régulièrement réunis pour faire état de leurs avancements. Les nouvelles connaissances biologiques sur *A. rostrata* qui en découlent aideront à la compréhension des événements globaux observés chez tous les *Anguilla* mais aussi enrichiront les connaissances générales sur les stratégies de migration et pourront intéresser et être utilisées dans des disciplines et sciences connexes.

Particulièrement, ce projet doctoral s'est penché sur l'aspect physiologique de ce projet stratégique. L'objectif général de celui-ci était de documenter les bases physiologiques, énergétiques et endocriniennes sous-jacentes à la catadromie facultative chez des civelles d'*A. rostrata* aux prémisses de leur développement dans les habitats trophiques continentaux. Les civelles ont été capturées à différentes dates d'arrivée en estuaire et dans différentes régions canadiennes choisies selon un gradient distance à la mer et ont été étudiées selon leur préférence de salinité. Les aspects originaux de ce projet doctoral sont premièrement, l'étude des facteurs de contrôle interne non étudiés à ce jour chez les civelles d'*A. rostrata* dès leur arrivée en rivière, et deuxièmement, le caractère

multidisciplinaire de ce projet. En effet, ce projet doctoral intègre des connaissances variées issues de l'écologie évolutive, de la physiologie intégrative, de l'endocrinologie, de la génomique et de la biologie cellulaire qui permettent une étude tant à l'échelle moléculaire qu'individuelle. Le but ultime de ce projet de doctorat était de vérifier si la catadromie facultative des civelles est soumise à des stratégies conditionnelles et inconditionnelles, s'il existe des patrons d'écotypes reliés à une salinité et de dégager les mécanismes physiologiques sous-jacents aux écotypes. Cette thèse s'organise en trois chapitres dont chacun d'eux a été présenté à différents congrès nationaux et internationaux, a été enrichi des nouvelles connaissances découlant des différents aspects du projet stratégique ainsi que par des formations sur les derniers développements et analyses de pointe en océanographie. Les résultats de chacun d'eux vont me permettre de suggérer un nouveau modèle de contrôle de la dispersion chez *A. rostrata*.

OBJECTIFS SPÉCIFIQUES

Premier objectif de recherche

Mon premier objectif de recherche était de vérifier si les statuts énergétiques 1) permettent la différenciation des écotypes eau douce et marins, 2) influencent la distance de migration, Nouvelle-Écosse par rapport à estuaire du Saint-Laurent, 3) influencent la phénologie des dates d'arrivée des civelles pour deux dates d'arrivée et 4) s'ils peuvent être utilisés comme proxy de la condition corporelle des civelles. Pour ce faire, les profils des grandes classes de lipides et les niveaux en glycogène total ainsi que la condition corporelle et le stade de pigmentation ont été analysés. La stratégie de dispersion conditionnelle ainsi que des écotypes reliés à une salinité se vérifie si les réponses sont homogènes qu'elles que soient la distance de migration et la date d'arrivée, mais hétérogènes selon la préférence de salinité de la civelle. Une stratégie de dispersion inconditionnelle et des écotypes reliés à l'habitat local sera plutôt suggérée, si les réponses sont homogènes qu'elle que soit la préférence de salinité et la date d'arrivée mais hétérogènes selon la distance de migration.

Deuxième objectif de recherche

Mon deuxième objectif de recherche était de vérifier si les patrons d'expression géniques pour des gènes associés à la régulation de l'appétit et au métabolisme des réserves énergétiques différaient entre les civelles. Ces patrons moléculaires reliés aux variations phénotypiques préalablement observées, permettront de jeter un éclairage nouveau sur les mécanismes physiologiques sous-jacents à la sélection de l'habitat au stade civelle. Ainsi, les analyses ont été effectuées avec les mêmes répliques biologiques que ceux analysés précédemment, c.-à-d. civelles de la même localité et capturées aux mêmes dates que celles du premier objectif, dans le but de comparer rigoureusement les effets de la variabilité spatio-temporelle sur l'ensemble des phénotypes énergétiques tant à l'échelle moléculaire qu'individuelle. Dans un deuxième temps, l'autre objectif de ce chapitre était de vérifier si les différents patrons d'expressions géniques observés, et par conséquent les statuts énergétiques, étaient dus à une reprise alimentaire, afin de clarifier l'état nutritionnel des civelles à l'arrivée en estuaire.

Troisième objectif de recherche

Mon troisième objectif de recherche était de vérifier les déterministes endocriniens sous-jacents aux différentes tactiques de migration des civelles. Pour ce faire, l'évaluation des patrons d'expression de gènes codants associés à la régulation des fonctions de l'osmorégulation, la croissance ou la métamorphose, selon la préférence de salinité et l'origine de capture des civelles, a été effectuée. Pour l'atteinte de cet objectif, une localité a été ajoutée et les analyses ont été faites indépendamment de la date d'arrivée afin d'augmenter le nombre de répliques biologiques. D'autre part, l'interprétation de ces résultats aura été enrichie des nouvelles connaissances découlant des analyses précédentes et de celles des recherches issues du projet stratégique. Enfin, l'année de capture étant similaire pour chacun des objectifs, une évaluation rigoureuse de la variabilité interindividuelle des réponses pourra être effectuée afin de proposer un nouveau modèle de mécanismes physiologiques et moléculaires impliqués dans la différenciation des écotypes.

CHAPITRE 1

VARIATION RÉGIONALE DES STRATÉGIES DE STOCKAGE D'ÉNERGIE CHEZ LES CIVELLES D'ANGUILLE D'AMÉRIQUE DE L'EST DU CANADA

1.1 RÉSUMÉ

Les statuts énergétiques ont été analysés chez des civelles capturées à deux dates en début de période migratoire, aux estuaires des rivières Mersey, Nouvelle Écosse, Canada (MR), et Grande-Rivière-Blanche, Québec, Canada (GRB), et selon leur préférence de salinité (eau douce, eau saumâtre, ou eau salée). Les civelles capturées à l'estuaire de GRB étaient plus grandes, plus pigmentées, et avaient des contenus corporels plus élevés en glycogène total, phospholipides, stérols et cires estérifiés. Celles de MR avaient un indice de condition plus élevé et avaient un contenu corporel plus élevé en triacylglycérol, suggérant différents modes de stockage ou d'utilisation des réserves énergétiques. Au sein d'une même rivière, une arrivée plus tardive de deux semaines se caractérisait par des niveaux des réserves énergétiques significativement plus faibles. Aucune différence dans les réserves énergétiques ne s'observait selon la préférence de salinité. Finalement, les résultats révèlent la contingence de différences dans les stratégies de stockage d'énergie selon la distance et la durée de migration de la civelle et non selon la préférence de salinité.

Ce premier article, intitulé « *Regional variation in energy storage strategies in American glass eels from Eastern Canada* », fut corédigé par moi-même ainsi que par les professeurs Céline Audet, Louis Bernatchez et Réjean Tremblay. Il fut accepté pour publication dans sa version finale le **19 juin 2015** par les éditeurs de la revue *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. En tant que premier auteur, ma contribution à ce travail fut l'essentiel de la collection des individus, la recherche sur l'état de l'art, le développement de la méthode, la réalisation des analyses, l'analyse et l'interprétation des résultats et la rédaction de l'article. Louis Bernatchez, second auteur et co-directeur de recherche, Réjean Tremblay, troisième auteur, et Céline Audet, directrice de recherche ont fourni l'idée originale. Chacun d'eux a aidé à la réalisation des analyses statistiques, l'interprétation des données ainsi qu'à la révision de l'article. De plus, Céline Audet et Louis Bernatchez ont contribué à la mise en place des pêches, du plan du travail et de la problématique ainsi qu'à l'organisation des idées. Enfin, Céline Audet et Réjean Tremblay ont participé de près au développement de la méthode et à la validation des données.

Une version abrégée de cet article a été présentée à différentes conférences et réunions annuelles : au congrès national de la Société canadienne d'écologie et d'évolution, à Kelowna (Canada) « *Is the energy status influencing dispersion in American glass eel ?* » M. Gaillard, L. Bernatchez, R. Tremblay et C. Audet à l'été 2013 ; lors des réunions annuelles de Ressources Aquatiques Québec, à Rimouski (Canada) « *Le statut énergétique est-il initiateur du choix du milieu colonisé par l'anguille d'Amérique* » M. Gaillard, L. Bernatchez, R. Tremblay et C. Audet à l'automne 2013, et à Québec (Canada) « *Les civelles d'Amérique qui migrent sur la côte est canadienne ont-elles toutes les mêmes caractéristiques physiologiques ?* » M. Gaillard, L. Bernatchez, et C. Audet à l'automne 2014 ; et enfin, lors de la conférence étudiante Nature dans tous ses états « *Il y a anguille sous roche !* » M. Gaillard, L. Bernatchez, et C. Audet à l'hiver 2014.

1.2 REGIONAL VARIATION IN ENERGY STORAGE STRATEGIES IN AMERICAN GLASS EELS FROM EASTERN CANADA

Mélanie Gaillard^a, Louis Bernatchez^b, Réjean Tremblay^a and Céline Audet^a

^aInstitut des sciences de la mer de Rimouski, Université de Québec à Rimouski, 310 Allée des Ursulines, Rimouski, Québec, G5L 3A1, Canada

^bInstitut de Biologie Intégrative et des Systèmes, Département de biologie, Université Laval, 1 030 avenue de la Médecine, Québec, Québec, G1V 0A6, Canada

1.3 ABSTRACT

Energy status was analyzed in glass eels captured during two early waves of arrival at the mouths of the Mersey River, Nova Scotia, Canada (MR), and Grande-Rivière-Blanche, Québec, Canada (GRB), and according to their salinity preference (freshwater, brackish, or saltwater). Glass eels captured in the GRB estuary were larger, more pigmented, and exhibited higher whole-body glycogen, phospholipid, and sterol and wax ester contents. Those from MR had a higher condition index and a higher whole-body triacylglycerol content, suggesting different patterns of storage and/or use of energy reserves. Within a river, a delay of two weeks in estuarine arrival was characterized by significantly lower energy reserves. No differences in energy storage were observed according to salinity preference. Thus, the results revealed the occurrence of different energy storage strategies according to glass eel migration distance and duration, but not according to salinity preference.

1.4 KEY WORDS

American glass eels, ecotypes, energy storage strategy, upstream migration, body lipid content

1.5 INTRODUCTION

Numerous biological studies have postulated that bioenergetic constraints have shaped migratory strategies for a wide variety of taxa including fishes (Bernatchez and Dodson, 1987; Schultz and Conover, 1997; Jonsson and Jonsson, 1998; Slotte, 1999; Stockwell and Johnson, 1999; Morinville and Rasmussen, 2003; Bureau Du Colombier et al., 2007; Busch et al., 2011; Hasler et al., 2012), birds (Johnston and McFarlane, 1967; Wiens and Innis, 1974), and insects (Roff, 1991; Rankin and Burchsted, 1992). In euryhaline fishes, migration is one of the most energetically demanding physiological processes (Gross et al., 1988).

American eel (*Anguilla rostrata*, Lesueur 1817) must perform extensive migrations during their life cycle. The leptocephalus larvae are carried by Gulf Stream currents for more than 3800 km from the spawning area in Sargasso Sea to the northern portion of their distribution range in coastal regions of Canada (McCleave, 2001; Tesch, 2003). At an overall mean age of 7–9 months, American eels metamorphose into glass eels, which are considered to be the recruitment stage. This major biological transformation triggers the estuarine migration (e.g., Tesch, 2003). Once they reach estuarine areas, glass eels may migrate upstream in rivers (migratory) or settle in salt or brackish water (residents) for feeding (Lamson et al., 2006; Jessop et al., 2008).

While American eel migration has been the subject of numerous studies, clear evidence for facultative catadromy (non-obligatory trophic migration to fresh water) has only recently been documented. Tsukamoto et al. (1998) were the first to describe a “sea eel” ecophenotype. Daverat et al. (2006) later reported six different patterns of habitat use in temperate eel species, i.e., *Anguilla rostrata*, *A. anguilla*, and *A. japonica*. In eastern Canada, many studies have also demonstrated the presence of different migratory patterns in *A. rostrata* (Cairns et al., 2004; Lamson et al., 2006; Thibeault et al., 2007; Jessop et al., 2012; Clément et al., 2014).

The occurrence of facultative catadromy means that eels may exhibit intra-specific variation in physiological capacities to cope with the different environmental conditions that are encountered. In European eel, facultative catadromy has been partly explained by variation in the threshold reaction norm to individual energetic status (Edeline et al., 2006; Edeline 2007; Bureau Du Colombier et al., 2011). Thus, individuals most likely to settle in a saltwater habitat (hereafter saltwater ecotype) are characterized by a low condition factor and low thyroid activity but a high level of growth hormone secretion. Such an endocrine profile results in low locomotor activity, decreased sensitivity to odours, low negative rheotaxis, a preference for saltwater, faster growth rate, and settlement in saltwater (Edeline et al., 2005a, 2005b, 2006; Edeline, 2007). In contrast, individuals most likely to settle in fresh water (hereafter freshwater ecotype) are characterized by a high energetic status and high thyroid activity but a low level of growth hormone secretion, which leads to high locomotor activity, high sensitivity to odours, high negative rheotaxis, a preference for fresh water, and a lower growth rate.

Energy availability can be a limiting factor in migration, particularly in species that do not feed during migration or subsist on energetic reserves, like lipids, accumulated by the preceding stage (e.g., *Alosa sapidissima*: Leonard and McCormick, 1999). Glass eels may not feed until their entry into estuaries (Charlon and Blanc, 1983; Desaunay and Guerault, 1997). Thus, to sustain their energetic demand, glass eels will catabolize the energy stored by the leptocephali during their ocean migration (*A. japonica*: Kawakami et al., 1999; *A. rostrata*: Tesch, 2003). Leptocephali feed on particulate organic matter such as marine snow, zooplankton fecal pellets, gelatinous zooplankton, larvaceans, and discarded appendicularian houses (Pfeiler, 1999; Riemann et al., 2010; Miller et al., 2013). The nutritional condition of leptocephali, which is affected by food availability, global warming trends, and local continental factors, will affect glass eel survival and development (*A. rostrata*, *A. anguilla*: Desaunay and Guerault, 1997; *A. japonica*: Kawakami et al., 1999; *A. rostrata*, *A. anguilla*, *A. japonica*: Munk et al., 2010; Knights, 2003).

In Canada, American eel is a threatened species (COSEWIC, 2012). Furthermore, the recruitment decline in the St. Lawrence system is far more drastic than on the Atlantic coast, with a reduction of more than 99% from 1986 to 2012 in the St. Lawrence system compared to 39% from 1993 to 2009 in Scotia-Fundy (Cairns et al., 2014). This is of major concern because this portion of the species, which is panmictic (Côté et al., 2013), is believed to have been the major source of female reproductive output before this decline (Castonguay et al., 1994; Cairns et al., 2007; Dutil et al., 2009). Edeline (2007) developed a theoretical model based on the “conditional evolutionarily stable strategy” model, which predicts that the proportion of migrants in the population would decrease with decreased overall recruitment.

As stated above, different migratory patterns have been observed in Atlantic Canada. In the Maritimes, the presence of a saltwater ecotype has been described (Cairns et al., 2004; Jessop et al., 2012; Clément et al., 2014), while the presence of different ecotypes has not yet been investigated in the St. Lawrence estuary. One hypothesis would be that sample origin defines the presence of freshwater vs. saltwater ecotypes. Alternatively, based on Edeline (2005), it could be that ecotypes are represented in both samples but are only revealed by salinity preference experiments. Boivin et al. (2015) compared salinity preference among glass eels captured in four different rivers (two in Nova Scotia and two in Québec) and showed that, among those that showed salinity preference, 60 to 75% of glass eels displayed similar preference for fresh water regardless of their geographic origin. However, controlled experiments have revealed the occurrence of growth variations and gene expression as a function of salinity conditions among regions, supporting the hypothesis of spatial variation in selection between glass and yellow eels from different origins even though the species is panmictic (Côté et al., 2009, 2014, 2015; Boivin et al., 2015). Moreover, a recent population genomics study by Pavey et al. (2015) recently provided strong evidence for genetic differentiation between yellow eels occupying brackish vs. eels occupying freshwater.

In this context, the objectives of this study were to determine how the energetic profile would influence migration distance (Nova Scotia vs. St. Lawrence estuary). We also tested the hypothesis that differences in condition and energy status would determine salinity preference, with high energy reserves being associated with a preference for fresh water. To do so, we examined glycogen and lipid profiles, two biochemical sources of energy used by different stages of fish larvae (*Sciaenops ocellata*: Vetter et al., 1983; *A. sapidissima*: Leonard and McCormick, 1999; *Onchorhynchus kisutch* and *O. tshawytscha*: Trudel et al., 2005; *Pseudopleuronectes americanus*: Fraboulet et al., 2010, 2011). Lipid class characterization is a powerful tool to identify energy reserves when energetic macromolecules are not clearly identified. It has been widely demonstrated that triacylglycerol (TAG), which is made up of three fatty acids that esterify to a glycerol backbone, is a common storage lipid in fishes, but other neutral lipids like wax ester, which have only one fatty acid that esterifies to a fatty alcohol, could play a role (Budge et al., 2006). Such information will improve our understanding of diadromous behaviour and the migration strategy used by American glass eels. This will allow appropriate management strategies to be developed that—it is hoped—will lead to stock recovery.

1.6 MATERIAL AND METHODS

1.6.1 FISH COLLECTION

Glass eels were captured ($n = 4822$) in the estuaries of two east coast Canadian rivers: from a commercial elver fishery in the Mersey River, Nova Scotia, on 26-28 March and 20-21 April 2012 and from Grande-Rivière-Blanche, Québec, on 2-6 and 18-21 June 2012 (Figure 10, Figure 11). These periods represent the early arrival of glass eels in this area (Côté et al., 2013). Glass eel captures began two hours before the nighttime high tide and lasted for three hours. Samplers waded into river mouths and captured eels using dip-nets and headlamps. Glass eels were transferred by car to the wet-lab facility at Maurice-Lamontagne Institute (IML; Fisheries and Oceans Canada) in buckets containing water from the estuary. The introduction and transfer of glass eels between provinces were done

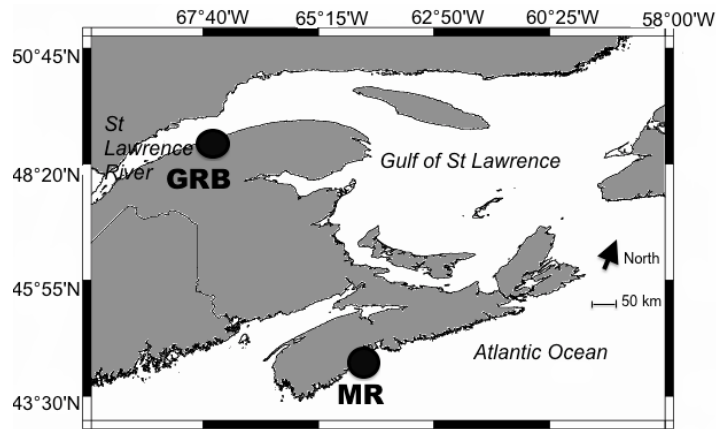


Figure 10 River estuaries where glass eel were sampled for this study Grande-Rivière-Blanche (GRB), 48°47' N, 67°41' W; Mersey River (MR), 44°02' N, 64°42' W

under conditions specified in the license obtained from Fisheries and Oceans Canada. Salinity preference tests were done upon arrival at IML and individuals tested by Boivin et al. (2015) were used in the present study. Following salinity preference determination (see Boivin et al., 2015 for a complete description of the methodology), a total of 120 glass eels were sampled for analyses: 30 glass eels from each sampling site and sample date (total of 60 for each river) including 10 with a preference for fresh water, 10 with a preference for brackish water, and 10 with a preference for salt water for each river and each sample date (Figure 11). Fish were individually anaesthetized in an aqueous solution of MS-222 (0.68 mM l⁻¹ of ethyl 3-aminobenzoate methanesulfonate; Sigma-Aldrich) in a Petri dish. Total body length (from the tip of the snout to the tip of the caudal fin; ± 1 mm) and wet mass (± 1 mg) were measured. Pigmentation stage was identified according to Haro and Krueger (1988). Glass eels were rinsed with brackish water, gently blotted dry, and transferred to 1.5 ml Eppendorf tubes that were immediately placed on dry ice. Samples were kept frozen (-80°C) until analysis.

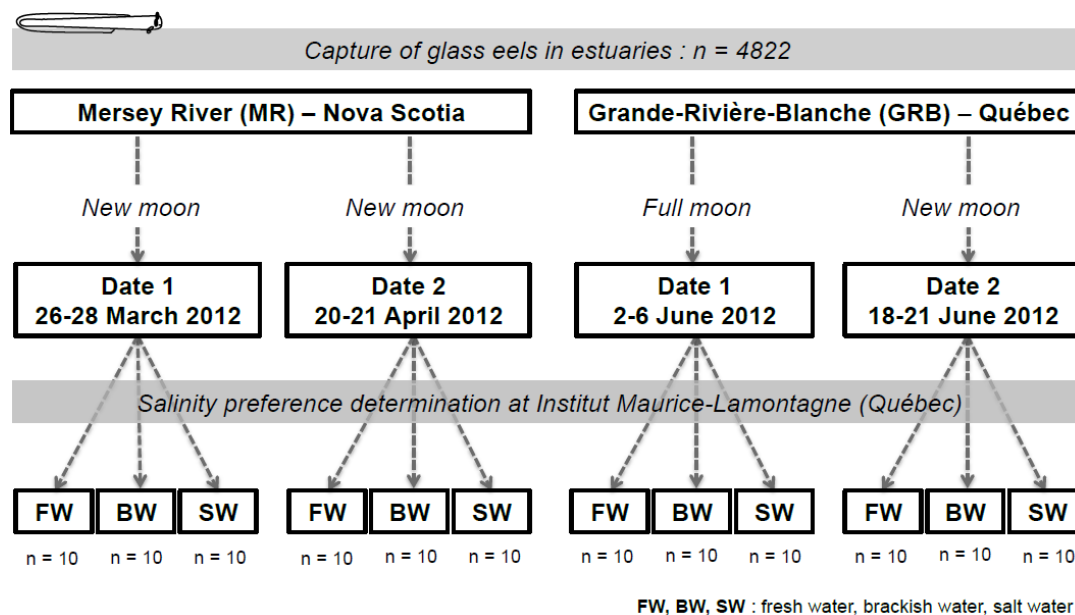


Figure 11 **Experimental design**

1.6.2 HOMOGENATES

For each sample, the whole glass eel was cryogenically ground using a stainless 12 mm \varnothing grinding bead in a Mixer Mill MM 400 (Retsh, Germany). The grinding bead was immersed for 30 s in liquid nitrogen before being transferred to the Mixer Mill for 1 min at a frequency of 12 Hz; each individual was ground twice. The homogenization equipment was cleaned with ethanol and rinsed with MilliQ water between samples. Ground tissue was transferred to Eppendorf tubes containing 0.8 ml ice-cold 10 mM phosphate buffer (pH 7.4) and stored at -80°C .

1.6.3 ANALYSES

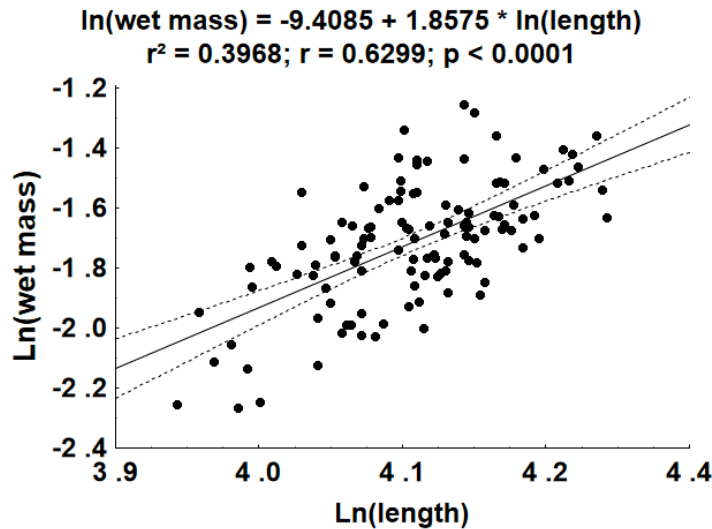


Figure 12 **Linear regression of the biometric relationship in American glass eel between length (mm) and wet mass (g) on an ln–ln axis.** The figure shows the fitted regression line and 95% confidence intervals (dashed lines); the regression equation, coefficient of determination (r^2), correlation coefficient (r), and p-value are also given.

The Le Cren condition index (K_n), which is independent of size (Le Cren, 1951), was used because American glass eel growth is not isometric ($a_c \neq 3$) (Figure 12). The index is calculated as follows: $K_n = W_m (aL^b)^{-1}$ where W_m is wet mass, L is total length, and a and b are empirically determined constants. The a and b constants were obtained by fitting a linear regression through \log_{10} transformed length and mass data, which resulted in the following equation: $\log_{10} W_m = -4.95 + 2.33 \log_{10} L; r^2 = 0.47; n = 195$.

Glycogen was measured using the quantitative enzyme assay described by Carr and Neff (1984) using a microplate reader (VMAX, Molecular Devices) at 414 nm. Lipids were extracted according to the Folch et al. (1957) procedure modified by Parrish (1999). The relative proportions of the different lipid classes (hydrocarbons [HC], sterol [SE] and wax esters [WE], ketones [KET], triacylglycerols [TAG], free fatty acids [FFA], acetone-mobile polar lipids [AMPL], and phospholipids [PL]) were determined using an Iatroscan Mark-VI

analyzer (Iatron Laboratories Inc., Tokyo, Japan) and were developed in a four-solvent system (Parrish, 1987, 1999). Lipids were extracted from 0.6 ml of homogenate with 4 ml of a chloroform–methanol (2:1) solution in a glass Dounce tissue homogenizer followed by the addition of 1.5 ml of KCl. The organic phase was collected after each of two centrifugations (2 min at 2000 rpm), evaporated under nitrogen flux at 35°C, resuspended in 0.250 ml of chloroform, and stored at -80°C. Extracts and the standard were spotted onto silica gel-coated chromarods (SIII; Shell USA), and lipid classes were separated using four different solvents and then quantified by thin-layer chromatography using flame ionization detection (Iatroscan MK-6, Shell USA). Lipid class peaks were quantified with PeakSimple software version 3.21 (SRI, Inc.), and lipid classes were identified and quantified using standard calibration curves obtained for each standard (Sigma Chemicals, Inc.). In addition, each analysis run included one composite standard in one of the 10 rods available, as suggested by Parrish (1987). Lipid classes were measured as $\mu\text{g}/\text{mg}$ of wet mass, summed to obtain total lipids, and expressed as percentage of total lipids.

1.6.4 STATISTICAL ANALYSES

The effect of river and date of capture on wet mass, length, Kn, glycogen concentration, total lipids concentration were analyzed with two-way ANOVAs ($\alpha = 0.05$) using STATISTICA v6.0 software (www.statsoft.com). Significant differences were identified with Tukey's multiple comparison tests ($p < 0.05$). Normality and homoscedasticity of data were verified with the Kolmogorov–Smirnov and Levene tests, respectively. The effect of salinity (experimental data) was analyzed using one-way ANOVA for glass eels originating from the same river and same date of capture to isolate the effect of salinity. Three-way ANOVAS could not be used because of capture differences from site to site. Quantitative pigmentation index data were analyzed with the nonparametric Kruskal–Wallis test. Lipid classes were analyzed separately using three-way PERMANOVA ($p < 0.05$) with 9999 permutations based on a Bray-Curtis matrix (river, date of capture, salinity preference). A posteriori comparisons were done using a PERMANOVA pairwise test. To analyze the similarity between profiles, non-metric multi-

dimensional scaling (n-MDS) and Simper analyses were performed with Primer 6.1.1.12 and PERMANOVA+ 1.0.2. Percentage data (lipid classes) were arcsine transformed (Sokal and Rohlf, 1995). When significant effects were found, variations of these effects were illustrated by two-way ANOVAs on arcsine-transformed data. Relationships between Kn and four proxies of energy content (glycogen, total lipids, triacylglycerols, and sterol and wax esters; expressed in μg per mg of wet mass) were analyzed by linear regression ($\alpha = 0.05$).

1.7 RESULTS

1.7.1 COMPARISONS BETWEEN RIVERS AND DATES OF CAPTURE

Date of capture or origin did not influence the wet mass or total lipid content of individuals (Table 1). However, those that arrived later were more pigmented (Figure 13A; $p < 0.001$), and glass eels from GRB were longer (Table 1) and more pigmented (Figure 13B; $p = 0.027$). Moreover, the Kn of glass eels entering MR was higher than that of eels entering GRB. Kn increased with time of capture in MR but not in GRB (Table 1).

The glycogen content of MR glass eels was similar between capture dates. However GRB glass eels captured during the first sampling period had significantly more glycogen than those captured two weeks later (Table 1), and their glycogen content was significantly higher than MR for both dates.

PL and TAG were the two main lipid classes present in *A. rostrata* glass eels followed by SE-WE (Table 1) and ST (unpublished data). TAG, PL, and SE-WE altogether explained more than 75% of the dissimilarities between river and date of capture (Table 2); TAG alone explained near 40%. Indeed, TAG were significantly higher in glass eels from MR than in those from GRB, with correspondingly lower PL and SE-WE contents since the content of total lipids was similar between origins (Table 1). For both rivers, glass eels that entered the estuary earlier in the season had significantly more TAG and SE-WE than those arriving later (Table 2).

Table 1 Results of two-way ANOVA (River, Date, River \times Date) on wet mass (g), length (mm), Le Cren condition index (Kn), glycogen content ($\mu\text{g mg}^{-1}$ of wet mass), total lipids ($\mu\text{g mg}^{-1}$ of wet mass), and relative proportions (% of total lipids) of triacylglycerols (TAG), phospholipids (PL), sterol and wax esters (SE-WE) in glass eels captured in two rivers (Mersey River: MR, Grande-Rivière-Blanche: GRB) at first arrival (MR 1, GRB 1) and at the next spring tide (MR 2, GRB 2) Mean \pm SE. Bold characters indicate significant differences between rivers, bold italic characters indicate significant differences between dates of capture, and different superscript letters indicate significant differences when significant interactions between factors were present. Ns: no significant difference.

	MR 1 N=30	MR 2 N=29	GRB 1 N=30	GRB 2 N=29	Effect River, Date, or River \times Date
Wet mass	0.18 \pm 0.01	0.20 \pm 0.01	0.18 \pm 0.01	0.18 \pm 0.01	Ns
Length	60.1 \pm 0.70	61.28 \pm 0.64	65.49 \pm 0.58	65.56 \pm 0.72	GRB > MR, $p < 0.0001$
Kn	1.04 \pm 0.03 ^b	1.13 \pm 0.03 ^a	0.92 \pm 0.02 ^c	0.89 \pm 0.02 ^c	River \times Date, $p < 0.05$
Glycogen	0.23 \pm 0.04 ^c	0.28 \pm 0.05 ^c	0.88 \pm 0.07 ^a	0.70 \pm 0.07 ^b	River \times Date, $p < 0.05$
Total lipids	7.91 \pm 1.93	6.32 \pm 0.46	5.85 \pm 0.736	4.86 \pm 0.33	Ns
TAG (%)	45.17 \pm 1.98	42.19 \pm 1.83	15.03 \pm 1.96	7.88 \pm 1.81	MR > GRB, $p < 0.0001$; 1 > 2, $p < 0.01$
PL (%)	28.80 \pm 1.11	28.08 \pm 1.58	48.43 \pm 1.24	50.48 \pm 1.42	GRB > MR, $p < 0.0001$
SE-WE (%)	6.53 \pm 1.59	10.39 \pm 0.62	13.29 \pm 0.63	15.75 \pm 0.55	GRB > MR, $p < 0.0001$; 2 > 1, $p < 0.05$

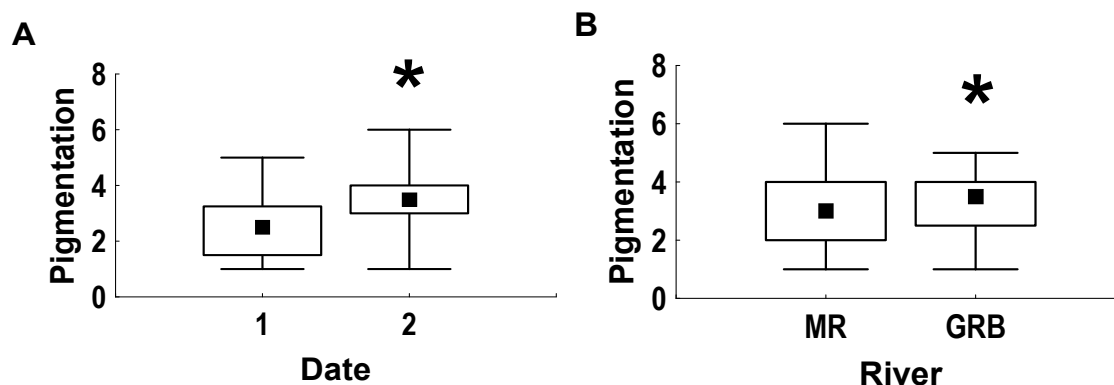


Figure 13 : Kruskal–Wallis results on pigmentation stage for each date (A) and each river (B) represented by boxplot figures. Asterisks indicate significant differences between rivers or dates of capture. Boxplots show minimum and maximum values, 25–75% rectangles, and the median. GRB: Grande-Rivière-Blanche; MR: Mersey River.

Table 2 Results of three-way PERMANOVA, average similarity, average dissimilarity, and dissimilarity contributions greater than 10% in lipid profiles River: Mersey (MR), Grande-Rivière-Blanche (GRB); Date of capture: first week of arrival and two weeks later; salinity preference: fresh, salt or brackish water. TAG: triacylglycerols; PL: phospholipids; SE-WE: sterol and wax esters. Bold: significant differences.

Source	Df	Pseudo-F	p (perm)	Average similarity (%)	Average dissimilarity (%)	Dissimilarity contribution (>10%)
River	1	260.6	0.0001	MR (82.61) GRB (84.47)	40.43	TAG (40.30) PL (26.46) SE-WE (12.61)
Date	1	8.84	0.0005	Date 1 (73.05) Date 2 (70.14)	28.73	TAG (39.00) PL (25.66) SE-WE (14.39)
Salinity	2	2.00	0.0922	-	-	-
River × Date	1	0.64	0.5598	-	-	-
River × Salinity	2	0.38	0.8438	-	-	-
Date × Salinity	2	0.33	0.8748	-	-	-
River × Date × Salinity	2	1.51	0.1916	-	-	-
Residuals	106	75.31				

1.7.2 COMPARISON AMONG GLASS EELS EXHIBITING DIFFERENT SALINITY PREFERENCES

Few differences were observed among glass eels exhibiting different salinity preferences. For each river and for each date of capture, wet mass and total lipid content were similar for glass eels with different salinity preferences (Table 3). Significant differences in length for glass eels with different salinity preferences were only observed in glass eels from MR during the second sampling session, with glass eels exhibiting a preference for freshwater being longer than those with a preference for brackish water. In glass eels from MR arriving earlier, those that preferred salt water had a higher Kn than those preferring brackish water. Moreover, those preferring fresh water had higher glycogen content than those preferring brackish water (Table 3). No differences in lipid class profiles were observed (Table 2).

Table 3 ANOVA results for salinity preference for each river and date of capture on wet mass (g), length (mm), Le Cren condition index (Kn), glycogen content ($\mu\text{g mg}^{-1}$ of wet mass), and total lipids ($\mu\text{g mg}^{-1}$ of wet mass) Mean \pm SE. Different letters indicate significant differences among salinities. FW: Freshwater preference; SW: Saltwater preference; BW: Brackish water preference; Ns: no significant difference.

	Mersey River - Date 1				Mersey River - Date 2			
	FW	SW	BW		FW	SW	BW	
	N=10	N=10	N=10		N=9	N=10	N=10	
Wet mass	0.17 \pm 0.01	0.19 \pm 0.01	0.17 \pm 0.01	Ns	0.22 \pm 0.01	0.20 \pm 0.01	0.18 \pm 0.01	Ns
Length	60.1 \pm 1.31	59.8 \pm 0.91	60.39 \pm 1.49	Ns	63.1 \pm 0.76 ^a	61.6 \pm 1.23 ^{ab}	59.3 \pm 1.0 ^b	p < 0.05
Kn	1.02 \pm 0.03 ^{ab}	1.13 \pm 0.05 ^a	0.96 \pm 0.05 ^b	p < 0.05	1.19 \pm 0.04	1.13 \pm 0.06	1.07 \pm 0.05	Ns
Glycogen	0.38 \pm 0.07 ^a	0.18 \pm 0.06 ^{ab}	0.12 \pm 0.06 ^b	p < 0.05	0.31 \pm 0.09	0.33 \pm 0.09	0.22 \pm 0.06	Ns
Total lipids	6.75 \pm 0.81	5.59 \pm 0.79	11.41 \pm 5.72	Ns	7.20 \pm 0.65	6.05 \pm 0.72	5.81 \pm 0.96	Ns

	Grande-Rivière-Blanche - Date 1				Grande-Rivière-Blanche - Date 2			
	FW	SW	BW		FW	SW	BW	
	N=10	N=10	N=10		N=10	N=10	N=10	
Wet mass	0.19 \pm 0.01	0.18 \pm 0.01	0.18 \pm 0.01	Ns	0.18 \pm 0.01	0.18 \pm 0.01	0.19 \pm 0.01	Ns
Length	65.5 \pm 0.80	65.9 \pm 1.19	65.1 \pm 1.09	Ns	65.6 \pm 1.30	65.8 \pm 1.25	65.3 \pm 1.31	Ns
Kn	0.95 \pm 0.04	0.90 \pm 0.02	0.90 \pm 0.03	Ns	0.88 \pm 0.03	0.87 \pm 0.03	0.92 \pm 0.03	Ns
Glycogen	0.86 \pm 0.08	0.89 \pm 0.19	0.88 \pm 0.08	Ns	0.81 \pm 0.17	0.67 \pm 0.10	0.62 \pm 0.09	Ns
Total lipids	6.18 \pm 0.38	5.85 \pm 0.92	5.53 \pm 0.50	Ns	4.13 \pm 0.40	5.56 \pm 0.64	4.81 \pm 0.58	Ns

1.7.3 CONDITION INDEX AND ENERGY RESERVES

Overall, Kn was significantly correlated with different proxies of energy content, but correlation coefficients were low (Figure 14). Surprisingly, Kn was negatively correlated with glycogen and SE-WE contents (Figure 14A; 14D). There was no relationship between total lipid content and Kn (Figure 14B). However, Kn was positively correlated with TAG content (Figure 14C).

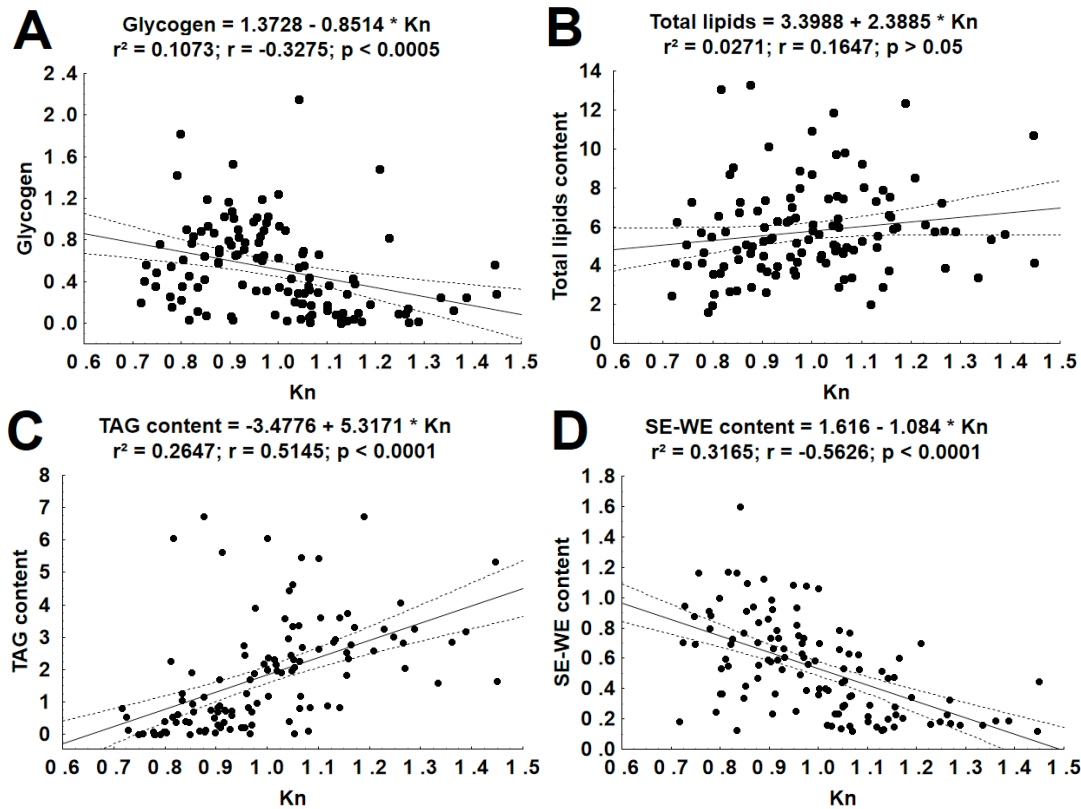


Figure 14 Glycogen (A), total lipid (B), tryacylglycerol (TAG) (C), and sterol and wax esters (SE-WE) (D) contents in relation to the Le Cren condition index (Kn). Data are expressed as μg of mg of wet mass. The coefficient of determination (r^2), correlation coefficient (r), and p-values are shown.

1.8 DISCUSSION

The aim of this study was 1) to verify whether differences in energetic status might be related to differences in migration distance, migration duration, or salinity preference of glass eels and 2) to determine whether the energetic status can reveal information on the physiological processes underlying the differentiation of marine or freshwater ecotypes. The results revealed the occurrence of different energy storage strategies according to migration distance and duration, but not according to salinity preference.

1.8.1 COMPARISONS BETWEEN RIVERS AND DATES OF CAPTURE

Within a river, wet mass was similar between capture dates, suggesting that glass eels arriving later in the river estuary did not experience greater migration costs; this was true for both MR and GRB glass eels. Dutil et al. (2009) estimated that one to two months were required for glass eels to transit from Cabot Strait to the St. Lawrence estuary, and this is exactly the delay observed between captures in MR and GRB. However, glass eels at GRB were longer and more pigmented than those from MR, indicating that they were nearer the elver stage and perhaps beginning the transformation to the yellow eel stage. It has been shown that American glass eel length increases with migration distance (Haro and Krueger, 1988; Laflamme et al., 2012) and that upstream migration is more costly for smaller individual (Weihs, 1977). The results from the present study agree with those obtained in the more southern part of this species' distribution area, where a very low pigmentation index was found in glass eels entering river estuaries in Florida (Sullivan et al., 2009). This is not specific to American eel: numerous studies have shown that glass eels of different species are older and longer at recruitment relative to distance from the breeding site (European glass eels: Naismith and Knights, 1988; Japanese glass eels: Tsukamoto and Umezawa, 1990; American and European glass eels: Wang and Tzeng, 2000).

The results indicate that wet masses were similar between capture dates. Similarly, Bureau du Colombier et al. (2011) observed no differences in wet mass in recently captured and starved European glass eels following 28 days spent at different salinities. Moreover, there is a general pattern in migratory fishes that those species (and populations within species) that make difficult and long migrations are larger and use their energy reserves more efficiently than those that make short migrations (Bernatchez and Dodson, 1987). This could possibly explain the observed differences between GRB and MR glass eels. The other explanation would be that feeding resumed with the development of pigmentation (Tesch, 2003).

In European silver eels, migration success depends on the amount of lipids stored during the growth phase (Boëtius and Boëtius, 1985). However, while we found no significant difference in total lipids, there were significant differences in lipid class composition depending on the river of origin, notably in the relative proportions of TAG followed by PL. Neutral lipids, and especially TAG, are generally the preferred source of metabolic energy in marine fishes for growth, reproduction, and swimming, particularly for the first ontogenic stages (Tocher et al., 2008). Lipids can be obtained from either external or internal body sources, and they may or may not be correlated to body mass. In the present study, neither total lipids nor mass varied with the river of origin, so glass eels were either eating during their migration to river estuaries or they had sufficient reserves to sustain their migration to the sampling sites. However, since our results are expressed relative to wet mass, they cannot take into account the possible effects of changes in water content. Another hypothesis is that glass eels captured in GRB could have had more lipids at the beginning of migration that would have been used during their transit from the Sargasso Sea to the St. Lawrence estuary. Indeed, GRB glass eels arrived one month later than the MR eels.

If it is assumed that glass eels do not eat during the estuarine migration (Charlon and Blanc, 1983; Tesch, 2003), lower energy reserves in GRB glass eels would be expected. In fact, there was a lower proportion of TAG, the main lipid reserve. This is consistent with previous studies done on unfed larvae that showed either lipid depletion or specific TAG depletion with time (e.g., Glencross, 2009). TAG constitutes a pool of energy reserves in marine fishes and is considered as the most efficient nutrient for maximizing energy production (e.g., Glencross, 2009). Bernatchez and Dodson (1987) showed that energy efficiency increases with increased migratory distance, thus the preferential use of TAG at GRB could be explained by a greater efficiency of energy use in those glass eels migrating further north.

The relative percentages of the different lipid fractions vary greatly in starved larvae depending on species, life stage, and environmental conditions (e.g., fishes: Rainuzzo et al.,

1997; Turchini et al., 2009). In unfed *Solea senegalensis* larvae, weight loss is due to lipid catabolism and lipid depletion since these larvae preferentially consume neutral lipids during development (Mourente and Vázquez, 1996). Unfed larvae of Atlantic bonito, *Sarda sarda*, gained dry mass and lost lipid content, mainly TAG and SE, during development (Ortega and Mourente, 2010). In turbot, *Scophthalmus maximus*, a rapid decrease in lipids with simultaneous reduction in the dry weight occurred in unfed larvae, and SE and TAG fractions were preferentially catabolized (Rainuzzo et al., 1997). Lipid depletion with specific catabolism of TAG was also observed during the migration of starved lamprey larvae, *Petromyzon marinus* (Kao et al., 1997).

Since TAG were preferentially used, it is somewhat surprising that there was no change in wet mass. In Japanese glass eels, wet weight was shown to be correlated to the lipid content of the peritoneal cavity, and this relationship was suggested as a useful way to estimate nutritional status (Kawakami et al., 1999). The same authors also observed that glass eels that arrived first at river mouths had higher mass than those that arrived two months later. A correlation between the percentage of body fat and eel size was also found in adult American eels (Gallagher et al., 1984), and lipid percentage was higher in larger European eels than in smaller ones (Degani, 1986). In the present study, the replacement of storage lipids by structural ones may explain the absence of wet mass differences.

The PL and SE-WE fractions were higher in GRB glass eels. In early juvenile fish, PL improve growth as well as survival rate and stress resistance (Glencross, 2009; Tocher et al., 2008). PL are mainly used as structural elements of biological membranes, so this could explain why this fraction is more important in more developed and longer glass eels. In copepods, reef corals, and several fishes, WE can be used as metabolic energy reserves (Lee et al., 1971; Rahn et al., 1973; Figueiredo et al., 2012), and WE metabolism may be linked with TAG metabolism since triacylglycerol lipases act on WE (e.g., Tocher, 2003). SE fractions have not been extensively studied in fishes, but they could be catabolized as energy reserves in the same way as TAG or WE (e.g., Ortega and Mourente, 2010) while also being structural components of the cell architecture. Similar trends for SE-

WE and PL fractions were observed, i.e., a greater proportion in more developed GRB glass eels along with a decrease in TAG, thus it is suggested that the changes in proportions observed in the present study would probably be more related to the structural role of SE.

Glycogen content was more than twice as high in GRB glass eels, suggesting that they preferentially oriented their metabolism to glucose conservation. In European glass eels, Degani et al. (1986) showed that lipids are preferred to carbohydrates to sustain metabolic needs. In adults, Larsson and Lewander (1973) revealed the utilization of liver and muscle triglycerides as energy sources and for the stimulation of gluconeogenesis, both of which increased in later phases of starvation. Moon (1983) suggested a minor role of carbohydrates in the fasting period of immature American eels, as shown by a decline in glycogen phosphorylase activity. Jedryczkowski (1979) and Degani et al. (1986) also showed that glycolysis efficiency in European eel was lower in freshwater during early development based on changes in aldolase activity. Differences in the relative proportion of palmitic acid in fatty acids were identified between freshwater and marine fishes (Ackman, 1967), thus glass eels from GRB may have a strategy close to freshwater fishes. However, fatty acid analyses are needed to confirm this. Glucose is essential to sustain oxidative metabolism in specific cells such as nervous tissue. TAG metabolism may help maintain glucose levels through gluconeogenesis and glycogen synthesis pathways, or glucose stocks may be preserved through energy production sustained by fatty acids or ketones to the β oxidation pathway (e.g., Tocher, 2003; McCue, 2010). Thus, having high glycogen storage coupled with a reduced TAG proportion seems plausible. As reviewed by McCue (2010), the ability to recover glycogen storages could differ as starvation progresses or be linked to a difference in the ability to endure a greater period of starvation and to prioritize metabolic costs in specific organs and tissues.

The presence of differences in energy stores deserves further investigation. Indeed, despite panmixia, a latitudinal cline in allele frequencies was observed in genes encoding for enzymes related to energetic metabolism, including sorbital dehydrogenase, alcohol dehydrogenase, and phosphohexose isomerase, in American glass eels captured from

Florida to Newfoundland (Koehn and Williams, 1978). More recently, Gagnaire et al. (2012) identified several genes that had spatially varying selection associated with habitat heterogeneity (three genes associated with lipid metabolism, two with saccharide metabolism, three with protein biosynthesis, three with defense response, and one with molecular function). This observation suggests that glass eels colonizing different areas of the geographical range, which are characterized by different physico-chemical characteristics, are exposed to differential patterns of selection. Moreover, adaptation to the water temperature gradient encountered in river estuaries from south to north would be relevant in variants of genes implicated in metabolism (Gagnaire et al., 2012). More recently, Pavey et al. (2015) performed a genome-wide association study that demonstrated a polygenic basis that discriminates American eels from freshwater and brackish water habitats. They found that 331 co-varying loci out of 42,424 were associated with the divergent ecotypes. These 331 SNPs are associated with 101 genes that represent vascular and morphological development, calcium ion regulation, growth and transcription factors, and olfactory receptors. Finally Côté et al. (2014) also showed that gene \times environment interactions may explain growth differences between MR and GRB yellow eels since differences were found in the expression of genes related to energy metabolism, energy respiration, growth, differentiation, and development.

Within a river, a delay of two weeks in estuarine arrival was characterized by significantly lower energy reserves. In GRB, TAG and glycogen contents were lower in fish captured later in the season while SE-WE increased and body condition, total lipid content, and wet mass remained constant. This again supports the hypothesis of the use of TAG and carbohydrates to sustain metabolism and a structural role for the lipids found in the SE-WE fraction in this particular region. MR glass eels arriving later also showed lower proportions of TAG and higher SE-WE contents, but their glycogen content was similar and Kn was higher than those in GRB glass eels. This indicates a difference in the use of metabolic reserves between the two areas. The patterns of Kn are difficult to explain in the absence of changes in total lipids and a decrease of storage lipids. The use of dry mass to express total lipids could have circumvented this.

1.8.2 COMPARISON BETWEEN GLASS EELS EXHIBITING DIFFERENT SALINITY DIFFERENCES

One of the main objectives of this study was to verify if energy status could be associated with habitat selection. A worldwide decline in freshwater eel recruitment is occurring, and settlement in saltwater environments is apparently increasing in American and European eels (e.g., Lambert, 2005; McCleave and Edeline, 2009). Behaviour experiments using MR and GRB glass eels allowed the identification of active glass eels which had a preference either for freshwater or saltwater, and inactive eels, which had a preference for brackish water (Boivin et al., 2015). Here, it was tested whether different salinity preferences could be correlated with specific energy status. Indeed, fatty acid requirements (e.g., Glencross, 2009), digestibility, transport, uptake, elongation and desaturation processes, and β -oxidation of fatty acids (e.g., Turchini et al., 2009) should be considered when looking at body lipid composition, but it may also be affected by abiotic factors including water salinity, temperature, and light (e.g., Dantagnan et al., 2013). Thus, salinity affects fish metabolism (Sampekalo et al., 1992), and differences in energy stores in glass eels could explain the occurrence of different metabolic strategies between the ecotypes considered.

Based on the conditional evolutionarily stable strategy suggested for European eel, in which migration in freshwater or saltwater at recruitment depends on the individual's energetic and thyroid status, freshwater glass eels should have a high energetic status and high thyroid activity, which would result in freshwater preference, low growth rate, and high migratory activity in contrast with saltwater glass eels (American yellow eel: Castonguay et al., 1990; European glass eel: Edeline et al., 2004, 2005a, 2005b, 2007; European elver and yellow eel: Imbert et al., 2008). Then lower energy reserves and larger size in glass eels with saltwater preference would have been expected compared to those preferring fresh water. Not only there was no difference based on salinity preference, but the river differences also did not support this hypothesis for American glass eels since the freshwater ecotype would be expected to be more frequent in GRB and the marine ecotype more frequent on the Atlantic coast (i.e., MR). It should be remembered that energetic

status differences in European eel were suggested from condition factor data (Edeline et al., 2006; Bureau Du Colombier et al., 2011). It is plausible that the dichotomy between freshwater and marine ecotype in our system would be better reflected by geographical differences rather than salinity preferences. Because condition factor did not differ between rivers, it is very difficult to make such comparisons with data on European eel. However, the present results are consistent with those obtained by Boivin et al. (2015), who observed no relationship between salinity preference and body condition in American eel, but observed differences in growth between origins under controlled conditions.

1.9 CONCLUSION

These results on American eel did not support the hypothesis of conditional strategy, i.e., that migration in freshwater or saltwater at recruitment depends on the individual's energetic status. Instead, the presence of higher carbohydrate content and differences in lipid storage and/or use of different lipid classes corroborate the occurrence of genetic differences between habitats and related to sites colonized by glass eels. How differences observed between rivers and dates of capture may affect glass eel survival and recruitment is unknown, but it certainly deserves further attention.

1.10 ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Brian Boivin, Marie-Ève Carpentier, Renée Gagné, Scott Pavey, Guillaume Côté, Roberta Miller, Michèle Pelletier-Rousseau, and Laurence Deneault-Tremblay for their field, technical, and scientific assistance. We are grateful to Yvonne Carey (Atlantic Elver Inc.) who provided glass eels from Nova Scotia free of cost. This research was supported by an NSERC grant (Strategic Partnership Program STPGP 397689-10) to LB and CA as well as by Ressources Aquatiques Québec research network (RAQ). Special thanks to Martin Castonguay (Fisheries and Oceans Canada) and Mélanie Dionne (Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs Québec) who contributed to glass eel collection.

1.11 REFERENCES

Ackman, R.G., 1967. Characteristics of the fatty acid composition and biochemistry of some fresh-water fish oils and lipids in comparison with marine oils and lipids. *Comp. Biochem. Physiol.* 22, 907-922.

Bernatchez, L., Dodson, J.J., 1987. Relationship between bioenergetics and behavior in anadromous fish migrations. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44, 399-407.

Boëtius, I., Boëtius, J., 1985. Lipid and protein content in *Anguilla anguilla* during growth and starvation. *Dana* 4, 1-17.

Boivin, B., Castonguay, M., Audet, C., Pavey, S., Dionne, M., Bernatchez, L., 2015. How does salinity influence habitat selection and growth in juvenile American eels *Anguilla rostrata*? *J. Fish Biol.* 86, 765-784.

Budge, S.M., Iverson, S.J., Koopman, H.N., 2006. Studying trophic ecology in marine ecosystems using fatty acids: A primer on analysis and interpretation. *Mar. Mammal Sci.* 22, 759-801.

Bureau Du Colombier, S., Biollet, V., Lambert, P., Bardonnnet, A., 2007. Energy and migratory behavior in glass eels (*Anguilla anguilla*). *Physiol. Behav.* 92, 684-690.

Bureau Du Colombier, S., Bolliet, V., Lambert, P., Bardonnnet, A., 2011. Metabolic loss of mass in glass eels at different salinities according to their propensity to migrate. *Est. Coast. Shelf Sci.* 93, 1-6.

Busch, S., Johnson, B.M., Mehner, T., 2011. Energetic costs and benefits of cyclic habitat switching: a bioenergetics model analysis of diel vertical migration in coregonids. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 68, 706-717.

Cairns, D.K., Chaput, G., Poirier, L.A., Avery, T.S., Castonguay, M., Mathers, A., Casselman, J.M., Bradford, R.G., Pratt, T., Verreault, G., Clarke, K., Veinott, G., Bernatchez, L., 2014. Recovery potential assessment for the American Eel (*Anguilla rostrata*) for eastern Canada: life history, distribution, reported landings, status indicators, and demographic parameters. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2013/134, xiv+157 pp.

Cairns, D.K., Omilusik, D.L., Leblanc, P.H., Atkinson, E.G., Moore, D.S., McDonald, N., 2007. American eel abundance indicators in the southern Gulf of St. Lawrence. Can. Data Rep. Fish. Aquat. Sci. 1192, iv+119 pp.

Cairns, D.K., Shiao, J.C., Iizuka, Y., Tzeng, W.N., MacPherson, C.D., 2004. Movement patterns of American eels in an impounded watercourse, as indicated by otolith microchemistry. N. Am. Fish. Manage. 24, 452-458.

Carr, R.S., Neff, J.M., 1984. Quantitative semi-automated enzymatic assay for tissue glycogen. Comp. Biochem. Physiol. B Comp. Biochem. 77, 447-449.

Castonguay, M., Dutil, J.-D., Audet, C., Miller, R., 1990. Locomotor activity and concentration of thyroid hormones in migratory and sedentary juvenile American eels. Trans. Am. Fish. Soc. 119, 946-956.

Castonguay, M., Hodson, P.V., Couillard, C.M., Eckersley, M.J., Dutil, J.-D., Verreault, G., 1994. Why is recruitment of the American Eel, *Anguilla rostrata*, declining in the St. Lawrence River and Gulf? Can. J. Fish. Aquat. Sci. 51, 479-488.

Charlon, N., Blanc, J.M., 1983. A study of the elvers (*Anguilla anguilla* L.) in the Adour Basin area. 2. Food intake and variations of biochemical characteristics from the outset of migration. Arch. Hydrobiol. 98, 240-249.

Clément, M., Chiasson, A.G., Veinott, G., Cairns, D.K., 2014. What otolith microchemistry and stable isotope analysis reveal and conceal about anguillid eel movements across salinity boundaries. Oecologia 175, 1143-1153.

COSEWIC. 2012. Committee on the Status of Endangered Wildlife in Canada assessment and status report on the American Eel *Anguilla rostrata* in Canada. Ottawa. xii+109 pp.

Côté, C.L., Castonguay, M., Verreault, G., Bernatchez, L., 2009. Differential effects of origin and salinity rearing conditions on growth of glass eels of the American eel *Anguilla rostrata*: implications for stocking programmes. *J. Fish Biol.* 74, 1934-1948.

Côté, C.L., Gagnaire, P.-A., Bourret, V., Verreault, G., Castonguay, M., Bernatchez, L., 2013. Population genetics of the American eel (*Anguilla rostrata*): $F_{ST} = 0$ and North Atlantic Oscillation effects on demographic fluctuations of a panmictic species. *Mol. Ecol.* 22, 1763-1776.

Côté, C.L., Castonguay, M., Svetlana McWilliam, K., Cramb, G., Bernatchez, L., 2014. In absence of local adaptation, plasticity and spatially varying selection rule: a view from genomic reaction norms in a panmictic species (*Anguilla rostrata*). *BMC Genomics.* 15, 403-418.

Côté, C.L., Pavey, S., Stacey, J.A., Pratt, T., Castonguay, M., Audet, C., Bernatchez, L., 2015. Growth, female bimodality and sex ratio variability in American Eel (*Anguilla rostrata*) of different origins in both controlled conditions and the wild: Implications for stocking programs. *Trans. Am. Fish. Soc.* 44, 246-257.

Le Cren, E.D.L., 1951. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *J. Anim. Ecol.* 20, 201-219.

Dantagnan, P., Bórquez, A., Pavez, C., Hernández, A., 2013. Feeding ω -3 PUFA enriched rotifers to *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842) larvae reared at different salinity conditions: effects on growth parameters, survival and fatty acids profile. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 41, 404-411.

Daverat, F., Limburg, K.E., Thibault, I., Shiao, J.C., Dodson, J.J., Caron, F., Tzeng, W.N., Lizuka, Y., Wickström, H., 2006. Phenotypic plasticity of habitat use by three temperate eel species, *Anguilla anguilla*, *A. japonica* and *A. rostrata*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 308, 231-241.

Degani, G., 1986. Dietary effects of lipid source, lipid level and temperature on growth of glass eel (*Anguilla anguilla*). *Aquaculture* 56, 207-214.

Degani, G., Hahamu, H., Levanon, D., 1986. The relationship of eel *Anguilla anguilla* (L.) body size, lipid, protein, glucose, ash, moisture composition and enzyme activity (aldolase). *Comp. Biochem. Physiol. A: Physiol.* 84, 739-745.

Desaunay, Y., Guerault, D., 1997. Seasonal and long-term changes in biometrics of eel larvae: a possible relationship between recruitment variation and North Atlantic ecosystem productivity. *J. Fish Biol.* 51 Supplement A, 317-339.

Dutil, J.D., Dumont, P., Cairns, D.K., Galbraith, P.S., Verreault, G., Castonguay, M., Proulx, S., 2009. *Anguilla rostrata* glass eel migration and recruitment in the estuary and Gulf of St. Lawrence. *J. Fish Biol.* 74, 1970-1984.

Edeline, E., 2005. Facteurs du contrôle de la dispersion continentale chez l'anguille. Ph.D. thesis. Paul Sabatier Toulouse III. 144 pp.

Edeline, E., 2007. Adaptive phenotypic plasticity of eel diadromy. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 341, 229-232.

Edeline, E., Bardonnet, A., Bolliet, V., Dufour, S., Elie, P., 2005a. Endocrine control of *Anguilla anguilla* glass eel dispersal: Effect of thyroid hormones on locomotor activity and rheotactic behavior. *Horm. Behav.* 48, 53-63.

Edeline, E., Dufour, S., Briand, C., Fatin, D., Elie, P., 2004. Thyroid status is related to migratory behavior in *Anguilla anguilla* glass eels. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 282, 261-270.

Edeline, E., Dufour, S., Elie, P., 2005b. Role of glass eel salinity preference in the control of habitat selection and growth plasticity in *Anguilla anguilla*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 304, 191-199.

Edeline, E., Lambert, P., Rigaud, C., Elie, P., 2006. Effects of body condition and water temperature on *Anguilla anguilla* glass eel migratory behaviour. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 331, 217-225.

Figueiredo, J., Baird, A.H., Cohen, M.F., Flot, J.F., Kamiki, T., Meziane, T., Tsuchiya, M., Yamasaki, H., 2012. Ontogenetic change in the lipid and fatty acid composition of scleractinian coral larvae. *Coral Reefs* 31, 613-619.

Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497-509.

Fraboulet, E., Lambert, Y., Tremblay, R., Audet, C., 2010. Assessment of paternal effect and physiological cost of metamorphosis on growth of young winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* juveniles in a cold environment. *J. Fish Biol.* 76, 930-948.

Fraboulet, E., Lambert, Y., Tremblay, R., Audet, C., 2011. Growth and lipid composition of winter flounder juveniles reared under natural and fixed photoperiod and temperature conditions. *N. Am. J. Aquacult.* 73, 89-96.

Gagnaire, P.-A., Normandeau, E., Côté, C., Møller Hansen, M., Bernatchez, L., 2012. The genetic consequences of spatially varying selection in the panmictic American eel (*Anguilla rostrata*). *Genetics* 190, 725-736.

Gallagher, M.L., Kane, E., Beringer, R., 1984. Effect of size on composition of the American eel, *Anguilla rostrata*. *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol.* 78, 533-536.

Glencross, B.D., 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Rev. Aquaculture* 1, 71-124.

Gross, M.R., Coleman, M.R., McDowall, R.M., 1988. Aquatic productivity and the evolution of diadromous fish migration. *Science* 239, 1291-1293.

Haro, A.J., Krueger, W.H., 1988. Pigmentation, size, and migration of elvers (*Anguilla rostrata* (Lesueur)) in a coastal Rhode Island stream. *Can. J. Zool.* 66, 2528-2533.

Hasler, C.T., Cooke, S.J., Hinch, S.G., Guimond, E., Donaldson, M.R., Mossop, B., Patterson, D.A., 2012. Thermal biology and bioenergetics of different upriver migration strategies in a stock of summer-run Chinook salmon. *J. Therm. Biol.* 37, 265-272.

Imbert, H., Arrowsmith, R., Dufour, S., Elie, P., 2008. Relationships between locomotor behavior, morphometric characters and thyroid hormone levels give evidence of stage-dependent mechanisms in European eel upstream migration. *Horm. Behav.* 53, 69-81.

Jedryczkowski, W., 1979. Elements of energy balance of eel *Anguilla anguilla* (L.). *Polskie archiwum hydrobiologii* 29, 159-172.

Jessop, B.M., Cairns, D.K., Thibault, I., Tzeng, W.N., 2008. Life history of American eel *Anguilla rostrata*: new insights from otolith microchemistry. *Aquat. Biol.* 1, 205-216.

Jessop, B. M., Wang, C.-H., Tzeng, W.-N., You, C.-F., Shiao, J.-C., Lin, S.-H., 2012. Otolith Sr:Ca and Ba:Ca may give inconsistent indications of estuarine habitat use for American eels (*Anguilla rostrata*). *Environ. Biol. Fish.* 93, 193-207.

Johnston, D.W., McFarlane, R.W., 1967. Migration and bioenergetics of flight in the Pacific golden plover. *The Condor* 69, 156-168.

Jonsson, N., Jonsson, B., 1998. Body composition and energy allocation in life-history stages of brown trout. *J. Fish Biol.* 53, 1306-1316.

Kao, Y.-H., Youson, J., Sheridan, M., 1997. Differences in the total lipid and lipid class composition of larvae and metamorphosing sea lampreys, *Petromyzon marinus*. *Fish Physiol. Biochem.* 16, 281-290.

Kawakami, Y., Mochioka, N., Kimura, R., Nakazono, A., 1999. Seasonal changes of the RNA/DNA ratio, size and lipid contents and immigration adaptability of Japanese glass-eels, *Anguilla japonica*, collected in northern Kyushu, Japan. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 238, 1-19.

Knights, B., 2003. A review of the possible impacts of long-term oceanic and climate changes and fishing mortality on recruitment of anguillid eels of the Northern Hemisphere. *Sci. Total Environ.* 310, 237-244.

Koehn, R.K., Williams, G.C., 1978. Genetic differentiation without isolation in the American eel, *Anguilla rostrata*. II. Temporal stability of geographic patterns. *Evolution* 32, 624-637.

Laflamme, S., Côté, C., Gagnaire, P.-A., Castonguay, M., Bernatchez, L., 2012. RNA/DNA ratios in American glass eels (*Anguilla rostrata*): evidence for latitudinal variation in physiological status and constraints to oceanic migration? *Ecol. Evol.* 2, 875-884.

Lambert, P. 2005. Exploration multiscalaire des paradigmes de la dynamique de population d'anguilles européennes à l'aide d'outils de simulation. Ph.D. thesis. Université Bordeaux 1. 219 pp.

Lamson, H., Shiao, J.C., Iizuka, Y., Tzeng, W.N., Cairns, D., 2006. Movement patterns of American eels (*Anguilla rostrata*) between salt- and freshwater in a coastal watershed, based on otolith microchemistry. *Mar. Biol.* 149, 1567-1576.

Larsson, Å., Lewander, K., 1973. Metabolic effects of starvation in the eel, *Anguilla anguilla* L. *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol.* 44, 367-374.

Lee, R.F., Nevenzel, J.C., Paffenhöfer, G.A., 1971. Importance of wax esters and other lipids in the marine food chain: Phytoplankton and copepods. *Mar. Biol.* 9, 99-108.

Leonard, J.B.K., McCormick, S.D., 1999. Effects of migration distance on whole-body and tissue-specific energy use in American shad (*Alosa sapidissima*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56, 1159-1171.

McCleave, J.D. 2001. Eels. *Encyclopedia of Ocean Sciences* (Elsevier Ltd., 2001) and *Encyclopedia of Ocean Sciences*, 2nd Edition (Elsevier Ltd. 2009). Editors-in-Chief: Steele, J. H., Thorpe, S. A. and Turekian, K. K. Oxford. 262-272. Academic Press

McCleave, J.D., Edeline, E., 2009. Diadromy as a conditional strategy: patterns and drivers of eel movements in continental habitats. *Am. Fish. Soc. Symp.* 69, 97-119.

McCue, M.D., 2010. Starvation physiology: reviewing the different strategies animals use to survive a common challenge. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 156, 1-18.

Miller, M.J., Chikaraishi, Y., Ogawa, N.O., Yamada, Y., Tsukamoto, K. and Ohkouchi, N., 2013. A low trophic position of Japanese eel larvae indicates feeding on marine snow. *Biol. Lett.* 9, 20120826.

Moon, T.W., 1983. Metabolic reserves and enzyme activities with food deprivation in immature American eels, *Anguilla rostrata* (LeSueur). *Can. J. Zool.* 61, 802-811.

Morinville, G.R., Rasmussen, J.B., 2003. Early juvenile bioenergetic differences between anadromous and resident brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 60, 401-410.

Mourente, G., Vázquez, R., 1996. Changes in the content of total lipid, lipid classes and their fatty acids of developing eggs and unfed larvae of the Senegal sole, *Solea senegalensis* Kaup. *Fish Physiol. Biochem.* 15, 221-235.

Munk, P., Hansen, M.M., Maes, G.E., Nielsen, T.G., Castonguay, M., Riemann, L., Sparholt, H., Als, T.D., Aarestrup, K., Andersen, N.G., Bachler, M., 2010. Oceanic fronts

in the Sargasso Sea control the early life and drift of Atlantic eels. *Proc. Biol. Sci.* 277, 3593-3599.

Naismith, I.A., Knights, B., 1988. Migrations of elvers and juvenile European eels, *Anguilla anguilla* L., in the River Thames. *J. Fish Biol.* 33 SA, 161-175.

Ortega, A., Mourente, G., 2010. Comparison of the lipid profiles from wild caught eggs and unfed larvae of two scombroid fish: northern bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L., 1758) and Atlantic bonito (*Sarda sarda* Bloch, 1793). *Fish Physiol. Biochem.* 36, 461-471.

Parrish, C.C., 1987. Separation of aquatic lipid classes by chromarod thin-layer chromatography with measurement by latroscan flame ionization detection. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44, 722-731.

Parrish, C.C. 1999. Determination of total lipid, lipid classes, and fatty acids in aquatic samples. *Lipids in freshwater ecosystems*. Arts, M. and Wainman, B. 4-20. Springer New York.

Pfeiler, E., 1999. Developmental physiology of elopomorph leptocephali. *Comp. Biochem. Phys. A* 123, 113-128.

Rahn, C.H., Sand, D.M., Schlenk, H., 1973. Wax esters in fish. Metabolism of dietary palmityl palmitate in the gourami (*Trichogaster cosby*). *J. Nutr.* 103, 1441-1447.

Rainuzzo, J.R., Reitan, K.I., Olsen, Y., 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture* 155, 103-115.

Rankin, M.A., Burchsted, J.C.A., 1992. The cost of migration in insects. *Annu. Rev. Entomol.* 37, 533-559.

Riemann, L., Alfredsson, H., Hansen, M.M., Als, T.D., Nielsen, T.G., Munk, P., Aarestrup, K., Maes, G.E., Sparholt, H., Petersen, M.I., Bachler, M., Castonguay, M., 2010. Qualitative assessment of the diet of European eel larvae in the Sargasso Sea resolved by DNA barcoding. *Biol. Lett.* 6, 819-822.

Roff, D.A., 1991. Life history consequences of bioenergetic and biomechanical constraints on migration. *Am. Zool.* 31, 205-216.

Sampekalo, J., Takeuchi, T., Watanabe, T., 1992. Comparison of gill lipids between fresh water fish. *J. Tokyo Univ. Fish.* 79, 71-76.

Schultz, E.T., Conover, D.O., 1997. Latitudinal differences in somatic energy storage: adaptive responses to seasonality in an estuarine fish (Atherinidae: *Menidia menidia*). *Oecologia* 109, 516-529.

Slotte, A., 1999. Effects of fish length and condition on spawning migration in Norwegian spring spawning herring (*Clupea harengus* L). *Sarsia* 84, 111-127.

Sokal, R.R., Rohlf, F.J., 1995. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*, fourth ed. WH Freeman and Co, New York.

Stockwell, J.D., Johnson, B.M., 1999. Field evaluation of a bioenergetics-based foraging model for kokanee (*Oncorhynchus nerka*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56 S, 140-151.

Sullivan, M.C., Wuenschel, M.J., Able, K.W., 2009. Inter and intra-estuary variability in ingress, condition and settlement of the American eel *Anguilla rostrata*: implications for estimating and understanding recruitment. *J. Fish Biol.* 74, 1949-1969.

Tesch, F.-W., 2003. *The Eel*. 3rd edition. Edited by Thorpe, J.E. Oxford. Blackwell Science.

Thibeault, I., Dodson J.J., Caron F., Tzeng W-N., Iizuka Y., Shiao J.C.. 2007. Facultative catadromy in American eels: testing the conditional strategy hypothesis. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 344, 219-229.

Tocher, D.R., 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev. Fish. Sci.* 11, 107-184.

Tocher, D.R., Bendiksen, E.Å., Campbell, P.J., Bell, J.G., 2008. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture* 280, 21-34.

Trudel, M., Tucker, S., Morris, J.F.T., Higgs, D.A., Welch, D.W., 2005. Indicators of energetic status in juvenile coho salmon and chinook salmon. *N. Am. Fish. Manage.* 25, 374-390.

Tsukamoto, K., Nakai, I., 1998. Do all freshwater eels migrate? *Nature*. 396. 635-636.

Tsukamoto, K., Umezawa, A., 1990. Early life history and oceanic migration of the eel, *Anguilla japonica*. *La Mer* 28, 188-198.

Turchini, G.M., Torstensen, B.E., Ng, W.-K., 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Rev. Aquaculture* 1, 10-57.

Vetter, R.D., Hodson, R.E., Arnold, C., 1983. Energy metabolism in a rapidly developing marine fish egg, the red drum (*Sciaenops ocellata*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 40, 627-634.

Wang, C.H., Tzeng, W.N., 2000. The timing of metamorphosis and growth rates of American and European eel leptocephali: A mechanism of larval segregative migration. *Fish. Res.* 46, 191-205.

Weih, D. 1977. Effects of size on sustained swimming speeds of aquatic organisms. In: Pedley, T.J. (Ed.), *Scale effects in animal locomotion*. New York. 333-338. Academic Press.

Wiens, J.A., Innis, G.S., 1974. Estimation of energy flow in bird communities: A population bioenergetics model. *Ecology* 55, 730-746.

CHAPITRE 2
VARIATION RÉGIONALE DES EXPRESSIONS DE GÈNES RELIÉS AU
MÉTABOLISME DES LIPIDES DE RÉSERVE CHEZ LES CIVELLES
D'ANGUILLE D'AMÉRIQUE (*ANGUILLA ROSTRATA*)

2.1 RÉSUMÉ

Des différences dans la régulation de gènes peuvent expliquer les différences dans les traits d'histoire de vie observés au sein d'une même espèce. Chez l'anguille d'Amérique (*Anguilla rostrata*), la présence d'écotypes au sein de la population panmictique est bien établie. Nous avons examiné les niveaux d'expression de gènes reliés à la régulation de l'appétit, des lipides et du glycogène chez des civelles migrant à différentes localités de la côte est canadienne et arrivant à différentes dates. Les niveaux d'expression de trois gènes de référence et de cinq gènes candidats ont été analysés par PCR en temps réel au moyen de sondes Taqman chez des civelles capturées dans le milieu. Tous les transcrits des gènes ont été détectés chez les civelles. Sur les cinq gènes candidats, ceux de la lipase pancréatique et de la triacylglycérol lipase étaient respectivement 7,65 et 3,25 fois plus exprimés chez les civelles de l'estuaire du Saint-Laurent que chez celles de la Nouvelle-Écosse et une différence de deux semaines dans les dates d'arrivée n'a eu aucune incidence sur les niveaux d'expression. Ces deux gènes expliquaient 82,41 % des différences entre les deux rivières. À l'opposé, il n'y avait aucune différence significative dans la transcription des gènes codant pour la glycogène phosphorylase, la ghréline et des récepteurs de la leptine.

Ces résultats confirment, au niveau moléculaire, une observation récemment révélée au niveau phénotypique, que les civelles de l'estuaire du Saint-Laurent auraient une meilleure aptitude à utiliser leurs lipides de réserve pour soutenir leurs besoins métaboliques. Ces observations s'ajoutent aux nouvelles preuves corroborant l'hypothèse selon laquelle les variations régionales phénotypiques observées chez l'anguille d'Amérique sont déjà présentes chez les jeunes stades et qu'une partie de cette variation est probablement sous contrôle génétique.

Ce deuxième article, intitulé « *Regional variation of gene regulation associated with storage lipid metabolism in american glass eel (*Anguilla rostrata*)* », fut corédigé par moi-même, les professeurs Céline Audet, Louis Bernatchez et Réjean Tremblay ainsi que les chercheurs Scott Pavey et Caroline Côté. Il fut accepté pour publication dans sa version finale le **22 février 2016** par les éditeurs de la revue *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. En tant que premier auteur, ma contribution à ce travail fut l'essentiel de la recherche sur l'état de l'art, l'élaboration des hypothèses de travail, la collection des individus, le développement de la méthode, l'exécution des analyses, l'étude et l'interprétation des résultats et la rédaction de l'article. Scott Pavey, second auteur, a contribué de près à la détermination des séquences. Caroline Côté et Réjean Tremblay, troisième et quatrième auteurs, ont participé de près à la validation du choix des gènes. Louis Bernatchez et Céline Audet, directeurs de recherche, ont fourni l'idée originale. Chacun des auteurs a contribué à l'organisation des paragraphes de l'article, la bonification de la discussion ainsi qu'à la révision de l'article.

Une version abrégée de cet article a été présentée à deux réunions annuelles de Ressources Aquatiques Québec qui se sont tenues toutes deux à Québec (Canada) : « *Les civelles d'Amérique qui migrent sur la côte est canadienne ont-elle toutes les mêmes caractéristiques physiologiques ?* » M. Gaillard, L. Bernatchez, et C. Audet à l'automne 2014, « *Civelle, dis-nous où tu migres et nous te dirons l'écotype auquel tu appartiens* » M. Gaillard, L. Bernatchez, et C. Audet à l'automne 2015.

2.2 REGIONAL VARIATION OF GENE REGULATION ASSOCIATED WITH STORAGE LIPID METABOLISM IN AMERICAN GLASS EEL (*ANGUILLA ROSTRATA*)

Mélanie Gaillard^a, Scott A. Pavey^{bc}, Caroline L. Côté^b, Réjean Tremblay^a, Louis Bernatchez^b, and Céline Audet^a

^aInstitut des sciences de la mer de Rimouski, Université du Québec à Rimouski, 310 Allée des Ursulines, Rimouski, Québec, G5L 3A1, Canada

^bInstitut de Biologie Intégrative et des Systèmes, Département de biologie, Université Laval, 1 030 avenue de la Médecine, Québec, Québec, G1V 0A6, Canada

^cDepartment of Biology, University of New Brunswick, Saint-John, New Brunswick, PO Box 5 050, E2L 4L5, Canada

2.3 ABSTRACT

Variation in gene regulation may be involved in the differences observed for life history traits within species. American eel (*Anguilla rostrata*) is well known to harbour distinct ecotypes within a single panmictic population. We examined the expression of genes involved in the regulation of appetite as well as lipid and glycogen among glass eels migrating to different locations on the Canadian east coast and captured at two different periods of upstream migration. Gene expression levels of three reference and five candidate genes were analyzed by real-time PCR with Taqman probes in recently captured wild glass eels. All gene transcripts were detected in glass eels. Of the five candidate genes, bile salt activated and triacylglycerol lipases were respectively 7.65 and 3.25 times more expressed in glass eels from the St. Lawrence estuary than in those from Nova Scotia, and there was no effect related to the two-week difference in capture date. These two genes explained 82.41% of the dissimilarity between the two rivers. In contrast, glycogen phosphorylase, ghrelin, and leptin receptor genes showed no significant differences in gene transcription. These results confirmed at the molecular level an observation that was recently made at the phenotypic level: that glass eels from the St. Lawrence estuary have a greater capacity to use lipid reserves to sustain their metabolic needs. These observations add to the body of evidence supporting the hypothesis that regional phenotypic variation observed in American eel is determined early in life and that part of this variation is likely under genetic control.

2.4 KEY WORDS

Ecotypes, ghrelin, glycogen phosphorylase, leptin receptor, lipase, mRNA expression, transcriptomics

2.5 INTRODUCTION

American eel, *Anguilla rostrata*, is a facultative catadromous fish (i.e., it performs a non-obligatory trophic migration to fresh water). It is widely distributed throughout eastern North America and is associated with a unique reproductive site in the Sargasso Sea (Tsukamoto et al. 1998). Consequently, the species is composed of a single, genetically homogeneous panmictic population (Côté et al. 2013). The leptocephalus larvae migrate toward the continental slope where they metamorphose into glass eels (Tesch 2003). Since the 1980s, a 99% decrease in glass eel recruitment has been observed in the St. Lawrence River, which used to support an important fishery in Canada (Cairns et al. 2014; Castonguay et al. 1994a, 1994b; MacGregor et al. 2008). This species was recently declared “threatened” in Canada (COSEWIC 2012).

In contrast, recruitment has remained relatively stable along the Atlantic coast of Canada, and this regional discrepancy in recruitment despite panmixia has puzzled managers for many years. In addition to regional recruitment variation, pronounced regional phenotypic variation has been documented in American eel. In particular, eels colonizing the St. Lawrence River and Lake Ontario are characterized as being much older and larger size at sexual maturity but slower growth rate compared to eels from the coastal areas, as well as being 100% females (Côté et al. 2015; Jessop 2010). While it has been traditionally believed that such phenotypic variation is entirely controlled by the environment (i.e., reflecting pure phenotypic plasticity), there is growing evidence that regional functional genetic variation may also play a role.

Differences in growth and profiles of gene transcription have been documented between eels from the St. Lawrence River and from the Canadian Atlantic coast when reared in common environments for three years (Côté et al. 2015, 2014, 2009). In addition, latitudinal variations in RNA/DNA ratios have been observed, with both lower body condition and higher RNA/DNA ratios in high and low latitudes (Laflamme et al. 2012; 47–49°N [Eastern Canada] vs. 30–32°N [Florida – South Carolina]).

Moreover, evidence for spatially varying selection resulting in regional variations in allele frequencies have been documented for genes involved in lipid and carbohydrate metabolism (Gagnaire et al. 2012). More recently, Pavey et al. (2015) provided strong evidence that the phenotypic differences observed between two ecotypes (freshwater from the St. Lawrence River vs. the brackish/saltwater from the east coast of Canada) have a polygenic basis for genes that are mainly involved in vascular and morphological development, calcium ion regulation, growth, transcription factors, and olfactory receptors. In brief, the notion that regional phenotypic variation observed in American eel is only due to phenotypic plasticity is no longer tenable, and genetic variation resulting from spatially varying selection must therefore also be taken into consideration for a full understanding of the complexity of eel life history.

Glass eels rely on the energy stored during the larval stage to achieve their migration towards feeding habitats (Boëtius & Boëtius 1989), which could be freshwater, estuarine, or marine (Arai 2012; Cairns et al. 2004; Jessop et al. 2002; Lamson et al. 2006; Pavey et al. 2015). In a recent study on the energetic status of American glass eels captured along the east coast of Canada (Nova Scotia and the St. Lawrence estuary), Gaillard et al. (2015) showed that there was no relationship between energy status and salinity preference, but there were differences in energy storage strategies between capture sites. Glass eels captured in the St. Lawrence estuary had a higher level of glycogen and lower reserves of triacylglycerol than those captured on the Atlantic coast. There is also some evidence that glass eels resume feeding once they are totally pigmented, but some individuals may need to feed to complete their upstream migration (e.g., Harrison et al. 2014). Indeed, non-pigmented glass eels with full stomachs were observed in Grande-Rivière-Blanche (GRB), which is a tributary to the St. Lawrence estuary (C. Côté, pers. comm.), and non-pigmented glass eels captured in both GRB and Nova Scotia were feeding in the lab (Côté et al. 2009). How the relative expression for genes involved in lipid and carbohydrate metabolism as well as appetite regulation varies in glass eels from different sites needs to be clarified. In this context, we tested 1) whether spatial or temporal differences in the expression of genes involved in lipid and glycogen metabolism

differed between glass eels migrating to Nova Scotia on the Atlantic coast or in the St. Lawrence estuary; and 2) whether genes regulating appetite would be more expressed in glass eels captured in the St. Lawrence estuary, supporting the hypothesis of early feeding. To achieve these goals, we used real-time PCR to measure the transcription level of five candidate genes: triacylglycerol lipase (TAGL), bile salt activated lipase (BAL), glycogen phosphorylase (GPase), ghrelin (GHRL), and leptin receptor (LEP-R).

2.6 MATERIALS AND METHODS

2.6.1 SAMPLING

Glass eels were captured by a commercial elver fishery in the Mersey River (MR; 44°02' N, 64°42' W), Nova Scotia (Atlantic coast), on 26–28 March and 20–21 April 2012 and by members of our research team in Grande-Rivière-Blanche (GRB; 48°47'N, 67°41'W), Québec (St. Lawrence River), on 2–6 and 18–21 June 2012 (Boivin et al. 2015). These periods represent the early arrival of glass eels in this area (Côté et al. 2009). Glass eel captures began two hours before the nighttime high tide and lasted for three hours. Samplers waded into river mouths and captured eels using dip-nets and headlamps. Glass eels were transferred by car to the wet-lab facility at Maurice-Lamontagne Institute (IML; Fisheries and Oceans Canada) in buckets containing water from the estuary. The introduction and transfer of glass eels from Nova Scotia to Québec were done under conditions specified in the license obtained from Fisheries and Oceans Canada. A total of 40 individuals were sampled for the present study: 10 glass eels per river site and date of capture (MR, March; MR, April; GRB, early June; GRB, late June). Glass eels were anaesthetized in 0.68 mM MS222 (ethyl 3-aminobenzoate methanesulfonate; Sigma-Aldrich). Total body length and wet mass were measured, and pigmentation stage was determined according to Haro & Krueger (1988). Pigmentation results are presented in Gaillard et al. (2015). Glass eels were individually stored at -20°C in RNALater until analyses.

2.6.2 CANDIDATE AND REFERENCE GENES

Five candidate genes were studied: triacylglycerol lipase (TAGL), which catalyzes the breakdown of triacylglycerol in several tissues (Murray et al. 2003; Tocher & Sargent 1984); bile salt activated lipase (BAL), the most important digestive lipase in teleosts (Iijima et al. 1998; Murray et al. 2003; Patton et al. 1975, 1977); glycogen phosphorylase (GPase), an enzyme that catalyzes the rate-limiting step in glycogenolysis (Brown & Cori 1961); and ghrelin (GHRL) and leptin receptor (LEP-R), which are hormonal factors generally considered to regulate appetite (Lin et al. 2000, Unniappan & Peter 2005). The use of only one reference gene in qPCR analysis is not recommended (Bustin et al. 2009), and reference gene expression can vary from one tissue to another (Olsvik et al. 2005). Vandesompele et al. (2002) recommended the use of three reference genes for the reliable normalization of a pool of normal tissues in order to avoid relatively large errors caused by the use of one reference gene. Based on previous eel studies (Weltzein et al. 2005), the reference genes chosen for the present work were acidic ribosomal protein (ARP) and cytochrome B (CytB); we also used elongation factor 1 (EF1), which was reported to be very stable in Atlantic salmon (Olsvik et al. 2005).

2.6.3 WHOLE BODY GRINDING

Glass eels were individually homogenized dry with liquid nitrogen using a Precellys Dual homogenizer coupled with a cooling system (Precellys, Bertin Technologies) in CKMix 50 R containing beads for hard tissue grinding. Samples were ground using three cycles of 26 s at 5800 rpm, with a 30 s time lapse separating each cycle. The resulting powder was held at -80°C until RNA extraction.

2.6.4 TOTAL RNA EXTRACTION

Total RNA was extracted from 10 mg dry mass of homogenate powder using an RNeasy® Fibrous Tissue Kit (Quiagen Inc., ON, Canada) and was diluted to obtain a final

concentration of 200 ng μl^{-1} . Total RNA purity, quality, and concentration were determined using electrophoresis on 2% agarose gel stained with ethidium bromide (0.05 mg ml^{-1}) (Alpha Imager® HP System, Alpha-InnoTech, Alpha Imager 3400 software, ProteinSimple) and the 260 nm / 280 nm absorbance ratio using a NanoVue Plus spectrophotometer (GE Healthcare, QC, Canada) before reverse transcription.

2.6.5 REVERSE TRANSCRIPTION

Reverse transcription was done using a Quantitect® Reverse Transcription Kit (Qiagen Inc., ON, Canada). The cDNA samples obtained were diluted to a final concentration of 20 ng μl^{-1} , separated into aliquots, and kept frozen at 20°C until further analysis. cDNA integrity and concentrations were verified with a NanoVue Plus spectrophotometer. Reverse transcription efficiency was verified using serial dilutions of a pool of four RNA samples from different origins and dates of capture to ascertain slopes of -3.3. qPCR analyses were performed in triplicate (Biorad MyiQ I cycler, Bio-Rad Laboratories, Inc., ON, Canada) using IQ™ SYBR® Green Supermix (Bio-Rad Laboratories Inc., ON, Canada) and an iCycler iQ™ Real-Time PCR on one reference gene (EF1). Linear regression of the serial dilution curve was done with MlcyiQ Software version 1.0 (Bio-Rad, USA), giving an efficiency of 94.5% ($y = 3.4603x + 10.341$; correlation coefficient: 0.997).

2.6.6 SPECIFIC SEQUENCES AND DESIGN OF TAQMAN PRIMERS AND PROBES

For GHRL and reference genes, primers were designed based on available mRNA sequences from genus *Anguilla* found in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) bank using Primer-Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) (Table 4). Primers were ordered with Integrated DNA Technologies™ (Coralville, IA, USA). A pool of randomly chosen cDNA samples (rivers and dates of capture) was used with primers for amplifications (all in duplicate) using polymerase chain

Table 4 Information on primers and probes The GenBank sequences (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) used to design primers for sequencing specific sequences (EST) are shown as forward (F) and reverse (R) primers with melt temperature ($^{\circ}\text{C}$). When cells are empty, specific coding DNA sequences (CDS) were obtained from the annotated American eel genome. Tagman forward (F) and reverse (R) primers and Tagman probes (P) used for real-time polymerase chain reaction (qPCR) analysis are provided with their melt temperature ($^{\circ}\text{C}$). qPCR efficiency (linear regression and coefficient of determination) are provided for each Tagman probe. See the Material and Methods section for descriptions of gene functions.

Gene (gene acronym)	Sequence used for primer design	Primer used for sequencing specific EST (melt temperature)	Tagman primers and probes used for measuring gene expressions (melt temperature)		qPCR efficiency
			primers	probes	
Reference genes					
Acidic ribosomal protein (ARP)	<i>Aamguilia</i> (GenBank accession no. AY763793)	F: GCCACGTGGAAGTCCAACTA (57) R: CAGCAGTTTCTCCAGAGCCG (58)	F: TCTTCCTGCGTGGAAGG (59) R: CTTCGCCAATCAGTCGTCTT (58) P: TTGTCCTGATGGC (69)	$y = -3.196 \times + 34.388$ $R^2 = 0.9993$	
Cytochrome B (Cyb)	<i>Aamguilia</i> (GenBank accession no. AF006714)	F: CATTCGCCAGACCGTCACT (57) R: ATTCGCCCTCATCGAAGCAC (58)	F: TCATTCGCCAGACCGTCAAC (58) R: CAGGCCCAATTCATGTAC (59) P: ATGCAATTAATTC (68)	$y = -3.1254 \times + 32.523$ $R^2 = 0.9992$	
Elongation factor 1 (EF1)	<i>Ajaponica</i> (GenBank accession no. AB593812)	F: CTGAACTCTGTATCGTG (58) R: TACGTTGCCAGCAGCGATT (57)	F: TTGCCCTCCCAACT (58) R: GGCATCATGTGTCATTTCC (59) P: ACCACTGAGGTCAAGTC (68)	$y = -3.3354 \times + 33.755$ $R^2 = 0.9998$	
Target genes					
Triacylglycerol lipase (TAGL)	–	–	F: GCACCCCGCTTATGCTT (60) R: ACCTTGCCTGATGGTGTG (59) P: ACCCCGGAGAAC (69)	$y = -3.356 \times + 39.015$ $R^2 = 0.9963$	
Bile salt activated lipase (BAL)	–	–	F: TGATCCCGTCTTGAAGATCA (59) R: CGGTAGACTCCAGCCAGACT (58) P: AGACCTGTGGCTT (69)	$y = -3.4627 \times + 40.166$ $R^2 = 0.99972$	
Glycogen phosphorylase (GPhase)	–	–	F: CCGTCCCTCCACTTCTATG (59) R: AACCCATTTGACCCCATCTG (58) P: CAGAGTGCACCCAC (68)	$y = -3.1649 \times + 36.873$ $R^2 = 0.99959$	
Ghrelin (GhRL)	<i>Ajaponica</i> (GenBank accession no. AB062427)	F: TCCAAGAGCACTGGTTT (57) R: CCAITGAGTTCGTCGTC (57)	F: CTTTACAGATGAGGAGATGA (59) R: GGACGAGACCCAGCAGAT (60) P: CCGACCGCATACAG (69)	$y = -3.1767 \times + 41.44$ $R^2 = 1$	
Leptin receptor (LEP-R)	–	–	F: CCGACGGCCCTTCTG (59) R: CTGACGCTGCTTAACTGT (58) P: TCCGTGACGGCACT (69)	$y = -3.1034 \times + 38.65$ $R^2 = 0.99496$	

reaction (PCR) with iCycler iQ™ Real-Time PCR (BioRad) using AmpliTaq Gold® 360 Master Mix Kit (Applied Biosystems®, CA, USA). The quality and integrity of each PCR product or amplicon were verified by electrophoresis on 2% agarose gel with ethidium bromide (0.05 mg ml⁻¹) containing a PCR marker (Sigma-Aldrich®, ON, Canada). Amplicons were purified on columns using a QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen Inc., ON, Canada). Purified amplicons were sequenced in forward and reverse directions with associated primers and the Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems®, CA, USA). Unincorporated dye terminators from sequencing reactions were removed using the Ultra-Step® Dye Terminator Removal Kit (Omega Bio-Tek, GA, USA). Isolated fragments containing dye-labeled dideoxynucleotide triphosphates (ddNTPs) were dried for 20 min using SpeedVac (Savant AS160 Automatic) and suspended in formamide; fragments were analyzed using a 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems®) and POP-7™ polymer (Life technologies™, ON, Canada). Amplification products obtained for GHRL, ARP, EF1, and CytB were sequenced (see annexe I). Assembly and alignment verification were done with nucleotide blast in primer blast (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). The percentages of homology were about 99% between ARP and *Anguilla anguilla* acidic ribosomal phosphoprotein (GenBank accession no. AY763793.1), 99% between CytB and *Anguilla rostrata* cytochrome b (GenBank accession no. KJ546053.1), 100% between EFI and *Anguilla australis* elongation factor 1 (GenBank accession no. HM367094.1), and 99% between GHRL and *Anguilla japonica* mRNA prepo-ghrelin (GenBank accession no. AB062427). For TAGL, BAL, GPase, and LEP-R, specific sequences from *Anguilla rostrata* were obtained from the draft annotated American eel genome (Pavey et al. unpublished results). Putative CDS regions (Coding DNA Sequence) for each gene were manually verified with BLAST using the SwissProt database based on homology with model organisms. TaqMan probes were designed using Primer Express 3.0 software (Applied Biosystems®) and were obtained from Life Technologies™ (Mairway, ON, Canada) (Table 4). All Taqman primers and probes gave stable qPCR efficiency with a coefficient of determination of 0.99 to 1 (Table 4).

2.6.7 REAL-TIME PCR

Real-time PCR (qPCR) was performed in triplicate for each glass eel sample using the ABI PRISM® 7900HT Sequence Detection System (Applied Biosystems®). A sample reaction volume of 10 µl was made up of 2 µl cDNA (10-2 ng µl⁻¹), 5 µl TaqMan Advanced Mix (Life Technologies™, ON, Canada), 2.5 µl sterile water, and 0.5 µl TaqMan 20 uM of gene-specific primers and probe (Life Technologies™, ON, Canada). Thermal cycling of qPCR consisted of two steps: 1) 2 min at 50°C for optimal AmpErase® uracil-N-glycosylase activity followed by 10 min at 95°C to activate AmpliTaq Gold® DNA Polymerase; 2) 45 cycles of denaturing at 95°C for 30 s and annealing/extend at 60°C for 1 min. Cycle thresholds (C_T) were obtained using Expression Suite 1.0 software (Applied Biosystems®, Foster City, CA). qPCR efficiency was verified for each TaqMan probe (Table 4). A serial dilution of 10⁻¹ to 10⁻⁵ was made on a new pool of eight randomly selected cDNA samples. qPCR analyses for each TaqMan probe were performed on the pool with the same protocol described previously in which 2 µl cDNA (10-2 ng µl⁻¹) was replaced by 2 µl of the cDNA pool.

Relative quantification of gene expression was calculated according to the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method of Livak & Schmittgen (2001): $2^{-\Delta\Delta C_T} = 2^{-(\Delta C_{T_e} - \Delta C_{T_c})}$ where $C_{T_e} = C_T$ *candidate gene* – C_T *reference genes* for sample *x*, and $C_{T_c} = C_T$ *candidate gene* – C_T *reference genes* for the calibrator.

In our study, the calibrator was the group of glass eels sampled at MR in March 2012 (the more southern river, first date of capture). The suitability, stability, and validation of quantitative qPCR reference genes for normalizing expression were verified with Expression Suite 1.0 software, where the score was calculated according to Vandesompele et al. (2002). The score is a gene-stability measure in qPCR analyses that may vary with tissues: the lower the score, the more stable the expression.

2.6.8 STATISTICAL ANALYSES

The relative quantifications of gene expression ($2^{-\Delta\Delta CT}$) for the five candidate genes were analyzed using two-way permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA; $p < 0.05$, 9999 permutations, type III of sums of squares, permutation of residuals under a reduced model) using the PERMANOVA+ add-on (v 1.02) in PRIMER (v6.1.1.12). River (two levels) and date (two levels) of capture were the two factors considered in analyses. Missing data (12 out of 560 data) were replaced by the mean of the subsample in a date–river group (Garcia et al. 2015). A Bray-Curtis similarity matrix was completed for relative gene expression data. Before performing the two-way PERMANOVA (river, date) and the pair-wise tests on significant effects ($p < 0.05$, 9999 permutations, type III of sums of squares, unrestricted permutation of raw data), distance-based tests for homogeneity of multiple dispersions (PERMDISP; $p < 0.05$, 9999 permutations; deviation from centroid) were run for the two factors and their interaction to determine if data needed transformation. Because all variables displayed homoscedasticity ($p > 0.05$), no transformations were required. When PERMANOVA detected a factor effect(s) on the whole data set (Table 5), one-way PERMANOVA analyses ($p < 0.05$, 9999 permutations, type III of sums of squares, unrestricted permutation of raw data) were done for each variable according to the significant factor and the Bray-Curtis matrix was completed (Table 5). PERMDISP analyses were performed for each variable to verify if transformation was required before running PERMANOVA analyses on individual variables. When significant effects were detected, pair-wise tests were performed ($p < 0.05$, 9999 permutations, type III of sums of squares, unrestricted permutation of raw data).

Table 5 Results of permutational multivariate analysis of variance tests, PERMANOVA A two-way PERMANOVA was first applied to the whole data set; depending on these results, a one-way PERMANOVA for coding genes was completed. Source tested, sum of squares of the test (SS), pseudo-F of the statistic, p(perm), and the number of the unique permutations (unique perms) done for the test are presented. Bold letters indicate significant results. BAL: bile salt activated lipase, TAGL: triacylglycerol lipase, GPase: glycogen phosphorylase, GHRL: ghrelin, LEP-R: leptin receptor. Bold characters indicate significant results.

Database	Source	SS	Pseudo-F	P (perm)	Unique perms
Whole data set					
Relative gene expression	River	10,203	8.1713	0.0002	9951
	Date	2075	1.6619	0.1461	9943
	River × date	2909.5	2.3303	0.0557	9965
Single variable					
	BAL River	13,686	6.94410	0.0003	9953
	TAGL River	6144.3	4.06070	0.0091	9956
	GPase River	184.32	0.21166	0.8744	9940
	GHRL River	661.03	0.46196	0.6832	9940
	LEP-R River	127.89	0.23694	0.7619	9950

To identify the relative contribution of each candidate gene to the differences between significant groups, one-way similarity percentage analysis (SIMPER; river) was run until 100% cumulative contribution. Only candidate genes contributing to more than 50% of differences among groups were considered. Finally, to explore dissimilarities between groups, multidimensional scaling plot analysis (MDS) was run and vectors of target genes that characterized the most the differences between groups were revealed. Vectors correspond to Spearman rank correlations.

2.7 RESULTS

When the whole data set was analyzed with PERMANOVA, only the river factor could differentiate gene expression in glass eels (Table 5; whole data set). Pair-wise comparisons between GRB and MR confirmed that the differences in gene expression were explained by the river factor (pair-wise test between rivers: $t = 2.8586$, p (perm) = 0.0003, unique perms = 9953). The results of the multivariate analysis showed no dissimilarity in gene expression levels with respect to the date of arrival or the interaction river \times date of arrival, although p was only slightly above 0.05 for the interaction factor (Table 5).

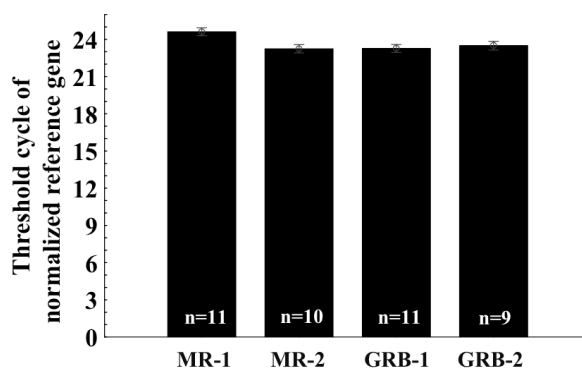


Figure 15 Average threshold cycle (C_T) for the normalized reference gene (geometric mean of individual C_T obtained for the three reference genes) for the two rivers (MR: Mersey River; GRB: Grande-Rivière-Blanche) and the two periods of capture in each river (MR-1: 26–28 March; MR-2: 20–21 April 2012; GRB-1: 2–6 June; GRB-2: 8–21 June 2012).

When the whole data set was analyzed with PERMANOVA, only the river factor could differentiate gene expression in glass eels (Table 5; whole data set). Pair-wise comparisons between GRB and MR confirmed that the differences in gene expression were explained by the river factor (pair-wise test between rivers: $t = 2.8586$, p (perm) = 0.0003, unique perms = 9953). The results of the multivariate analysis showed no dissimilarity in gene expression levels with respect to the date of arrival or the interaction river \times date of arrival, although p was only slightly above 0.05 for the interaction factor (Table 5).

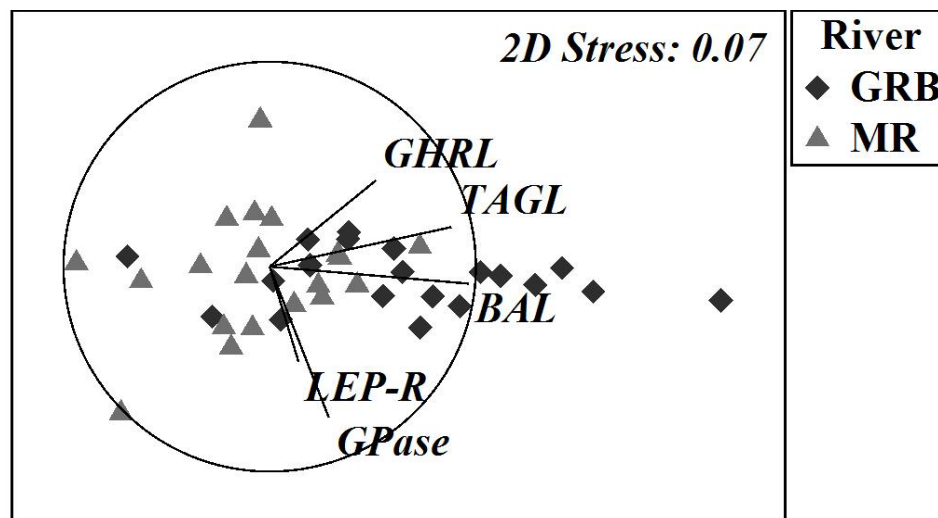


Figure 16 **Multidimensional scaling (MDS) between rivers including data from the 40 individuals (10 per river and date of capture) based on the Bray-Curtis dissimilarity matrix.** River was the only significant factor detected by permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA). The stress values indicate the significance level of the representation. MDS illustrates how the measure of gene expression of whole glass eels differs between rivers on a two-dimensional plot and which variables characterize the difference between rivers. Vectors correspond to Spearman rank correlations. On the horizontal MDS axis, BAL $r = 0.97$, TAGL $r = 0.88$, GPase $r = 0.29$, GHRL $r = 0.52$, LEP-R $r = 0.14$. On the vertical MDS axis, BAL $r = -0.09$, TAGL $r = 0.79$, GPase $r = -0.73$, GHRL $r = 0.43$, LEP-R $r = -0.46$.

MDS analysis also showed higher dissimilarities between individuals from GRB than between those from MR. Individuals from MR were more tightly grouped while individuals from GRB were more scattered on the horizontal axis of the plot (Figure 16). The source of variations for GRB is explained by relative expression of BAL and TAGL (BAL and TAGL were highly correlated on the horizontal MDS axis with a correlation factor respectively of 0.97 and 0.88), while the source of variations for MR is explained by the greater discrepancies in the relative expression of the different candidate genes. To confirm the results of the projection on the MDS plot and to identify which candidate genes varied with river of origin, permutation tests were done gene by gene according to the river factor (Table 5; single variable).

Table 6 Relative contribution (until 100% cumulative contribution) of candidate genes to differences between rivers by one-way similarity percentage analysis (SIMPER)

Av. Abund.: average abundances over all samples, Av. Diss.: average contributions to the total dissimilarities, Contrib%: percentage contribution to the total dissimilarities, Cum%: cumulative percentage contribution to the total dissimilarities. BAL: bile salt activated lipase, TAGL: triacylglycerol lipase, GPase: glycogen phosphorylase, GHRL: ghrelin, LEP-R: leptin receptor. Bold text indicates a significant contribution of the target genes.

Candidate gene	Av. Abund. GRB	Av. Abund. MR	Av. Diss.%	Contrib.%	Cum.%
BAL	24.00	3.25	34.20	62.30	62.30
TAGL	7.65	2.33	11.04	20.12	82.41
GPase	1.93	1.59	3.79	6.91	89.32
GHRL	1.61	1.22	3.53	6.42	95.75
LEP-R	1.24	1.24	2.33	4.25	100.00
			Σ Diss.: 54.89%		

A highly significant river effect was detected for BAL and TAGL (Table 5). Indeed, the relative expression of genes coding for these two enzymes, which are involved in lipid metabolism, explained more than 80% of dissimilarities between MR and GRB (Table 6). BAL data alone explained about 60% of the dissimilarities. To evaluate differences in the level of gene expression between MR and GRB, one-way PERMANOVA between rivers were performed for each candidate gene (Figure 17). BAL gene expression was 7.4 times higher in glass eels from GRB compared to MR (Figure 17A; 24 times higher than in the calibrator) and, in the absence of a date of capture effect, the BAL expression in MR was very close to the calibrator. Gene expression was calibrated based on the expression levels observed in the MR/March data (the most southern location and the earliest date of capture). TAGL gene expression was 3.3 times higher in GRB glass eels (7.65 higher than in the calibrator), and the expression in MR was again very close to the level of expression in the calibrator (Figure 17B). The expressions of genes coding for GPase, GHRL, and LEP-R were very stable among glass eels from both origins, and expression was not significantly different from the expression measured in the calibrator group (Figure 17C, 17D, 17E) despite tendencies for higher expression of GPase and GHRL in GRB. Indeed, the relative expression of these three candidate genes did not contribute to the dissimilarity between the two rivers (Table 5, Table 6).

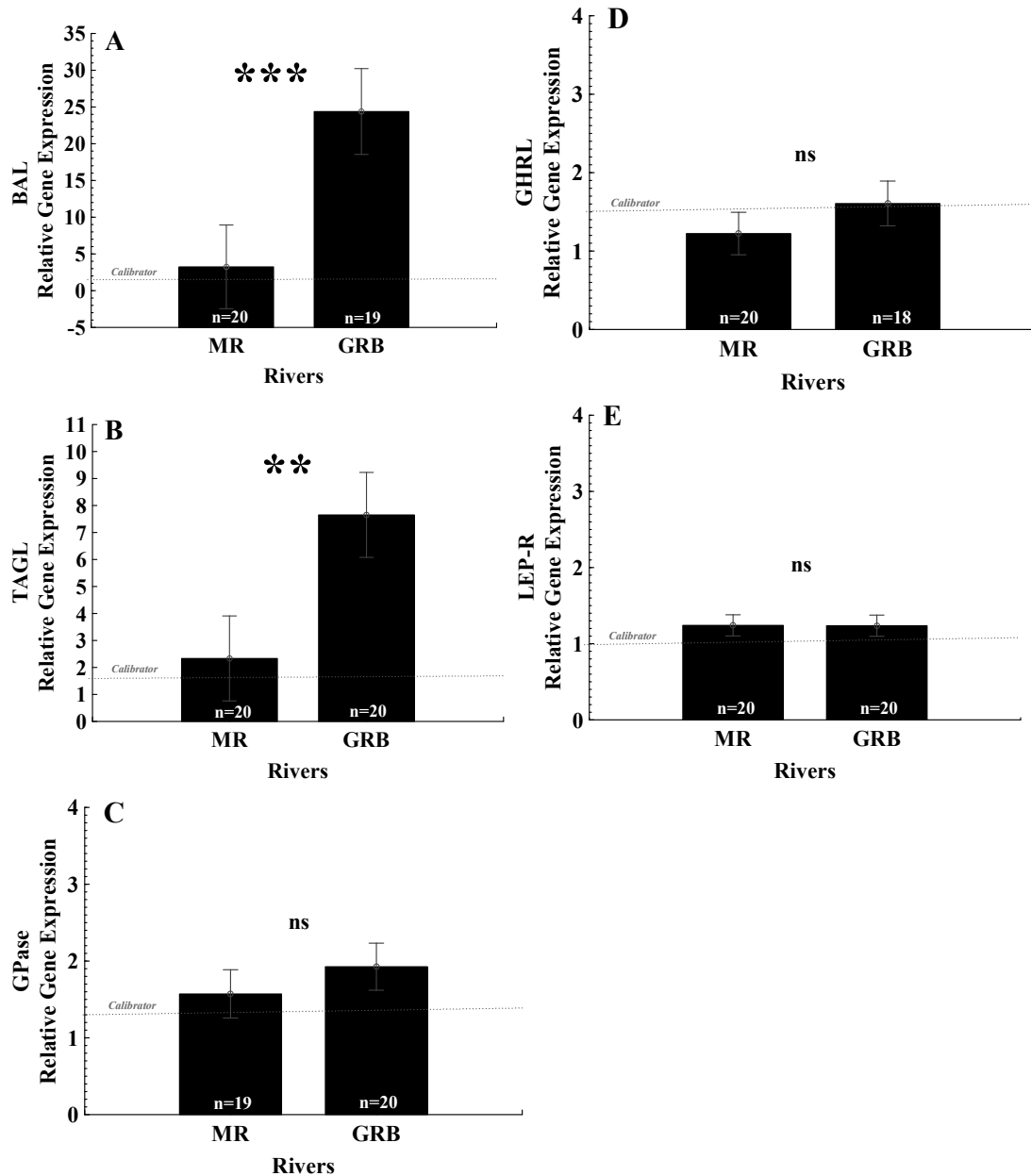


Figure 17 Profiles (means \pm SE) of the relative gene expression of bile salt activated lipase (BAL), triacylglycerol lipase (TAGL), glycogen phosphorylase (GPase), ghrelin (GHRL), and leptin receptor (LEP-R) target genes in glass eels captured in the Mersey River (MR) and Grande-Rivière-Blanche (GRB). The horizontal lines show the level of relative gene expression of the calibrator group (MR, March 2012). Asterisks show the level of significance of the pair-wise test; **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.005$, ns: $p > 0.05$. The total numbers of glass eels per river are also presented.

2.8 DISCUSSION

2.8.1 ENZYMES INVOLVED IN LIPID METABOLISM

Our results highlighted the importance of lipases in glass eel metabolism. The capacity for effective lipolysis is present in American glass eels since lipase enzymes were expressed. Among the candidate genes under study, TAGL and BAL explained most of the differences between rivers of capture. Both lipases were significantly more expressed in GRB glass eels, which were previously shown to have a 66% lower level of triacylglycerol content than glass eels from MR (Gaillard et al. 2015). These results confirm the hypothesis of local differences in the regulation of lipid metabolism between glass eels from different locations: GRB glass eels might use their lipid reserves more efficiently to sustain metabolism than those captured in Nova Scotia. Indeed, glycerol and fatty acids can be produced from the hydrolysis of triacylglycerol (e.g., Tocher 2003).

We found no local differences regarding the expression of GPase, GHRL, or LEP-R, suggesting conservation of these functional traits. For TAGL and BAL, some factors affecting gene \times environment interactions, or others related to larval development or biochemistry, could be suggested as underlying the differences between GRB and MR. However, the absence of a “time effect” seems to refute the possibility of developmental differences. Because we used whole larvae instead of specific organs to measure gene expression, this may have made the detection of subtle differences more difficult.

BAL and TAGL were much more expressed in GRB. The differences we observed were present in glass eels upon arrival in their respective rivers. These results corroborate those of Côté et al. (2014), who documented that glass eels captured in either Nova Scotia or GRB had different expressions at two lipase EST (Expressed Sequence Tag) sites. Even after three months of growth under laboratory conditions, differences in expression were still present. Altogether, these results strongly support the presence of local differences in gene expression. Gagnaire et al. (2012) also reported different allele frequencies in glass

eels captured from Florida to the St. Lawrence Estuary, including genes related to lipid metabolism (inhibition of phospholipase A2, acyl carrier activity, phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase activity), and they suggested that temperature could be the environmental factor the most likely to induce such gene \times environment interactions. The most pronounced inter-individual variability shown by the MDS analysis was for GRB for lipase expression, and this may indicate a greater ability of GRB glass eels to respond to variations of environmental factors.

The expression of genes coding for lipase, trypsin, chymotrypsin, amylase, and phosphorylase A2 may also be modulated by dietary content in fish (e.g., Zambonino Infante & Cahu 2001). Results from larval fishes are contradictory on this point, and species-specific responses are present. In European sea bass, *Dicentrarchus labrax*, sole, *Solea solea*, and red drum, *Sciaenops ocellatus*, lipase activity and expression were regulated by the source of the triglycerides (Buchet et al. 2000; Zambonino Infante & Cahu 1999). In other species, such as winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*, diet did not affect BAL or TAG mRNA expression (Vagner et al. 2014). If we assume a diet effect on lipase gene expression in American glass eel, this could be the result of eating at the glass eel stage, as suggested by observations done by Côté (unpublished results), or it could be the effect of differences in dietary inputs at the leptocephalus stage. In such conditions, however, a time effect would have been expected.

For instance, lipase expression may also be related to developmental stage (Vagner et al. 2014; Zambonino Infante & Cahu 2001), and variability in the capacity to digest lipids was observed within species in individuals of different ages (e.g., Glencross 2009). Such age differences could explain the highest gene expression level observed for both lipases in GRB glass eels that arrived later on the migration site. However, this hypothesis does not seem to be supported since no temporal differences were observed either at MR or GRB (Gaillard et al. 2015).

Lipase activity may also be related to plasma levels of ketones, which act as mediators in lipolysis (Morais et al. 2004). GRB glass eels had significantly greater body contents of ketones than those from MR (4.2% vs. 1.7%, respectively; $p < 0.0001$, $F = 153.79$; unpublished data), but we do not know how this may affect lipase expression. Ketone bodies might represent an important fuel source during prolonged starvation from the conversion of excessive amounts of acetyl-CoA liberated by β -oxidation in fish (Figuerola et al. 2000; Heming & Paleczny 1987; Ramos & Smith 1978; Singer et al. 1990; Soengas & Aldegunde 2002; Soengas et al. 1998, 1996).

2.8.2 GLYCOGEN PHOSPHORYLASE

We expected to find a more elevated GPase gene expression in MR glass eels because previous studies showed lower glycogen content in MR than in GRB glass eels (Gaillard et al. 2015). GPase, which is involved in the first step of glycogenolysis, was analyzed to confirm whether glass eels captured at MR had a greater ability to use glycogen stores to fulfill their energetic needs. Moon (1983) measured the activity of different glycolytic enzymes in immature starved American eels and showed that glycogen content remained constant and that the only enzyme showing differences in activity was GPase. In contrast to our expectations, higher allele frequencies for ESTs associated with gluconeogenesis were present in glass eels captured in GRB compared to those from the Atlantic coast (Pavey et al. 2015), indicating a decoupling between variations at the genotypic and phenotypic levels for this gene.

GPase is also involved in the energy supply for osmoregulation in fish gills. Tseng et al. (2007) showed that the expression of genes coding for different GPase isoforms differed according to environmental salinity. In isolated hepatocytes of *Clarias batrachus* and *Sebastes caurinus*, GPase activity increased with hyperosmotic conditions (Hallgren et al. 2003). Expression of GPase observed in both MR and GRB glass eels could then also be related to osmoregulation since glass eels are in transition between salt, brackish, or fresh water.

2.8.3 GHRELIN AND LEPTIN RECEPTOR

We hypothesized that when feeding is occurring, genes regulating feeding–appetite should be more expressed. GHRL and LEP-R do not provide direct evidence of feeding, but could be used as indicators of feeding based on previous work done on early stages of development in Japanese eel (Kurokawa et al. 2011). Both genes were expressed in glass eels, but their expression was similar among rivers and dates of arrival. In Japanese eel, gastric ghrelin hormone was immunocytochemically detected as early as the leptocephalus stage and was detected in several organs and tissues at the glass eel stage (oesophagus, gastric gland, vascular system, kidney, and skin) (Kurokawa et al. 2011, 2002; Lee et al. 2015). Gastric ghrelin hormone appears to play a vital role in early development. Ghrelin isolated from *A. japonica* stimulated the release of GH and prolactin from *Oreochromis mossambicus* pituitary cells in vitro (Kaiya et al. 2003), thus ghrelin is likely associated with the control of feeding and intestinal motility in fish (e.g., Olsson et al. 2008; Volkoff et al. 2005). Changes in the distribution of ghrelin-producing cells between leptocephalus, glass eel, and elver stages have been suggested to be related to differences in dietary habits among the different developmental stages (Kurokawa et al., 2011). Because glass eels from both sites and dates of arrival differed in terms of pigmentation, length, glycogen, and lipid body contents (Boivin et al. 2015; Gaillard et al. 2015), none of these factors seem to affect the expression of these genes. Thus our hypothesis of feeding effects is not supported. Our observations would rather support the results on *A. japonica* by Lee et al. (2015), who found no relationship between ghrelin and glass eel growth. In adult European eel, four months of fasting did not induce any changes in the expression of LEP or LEP-R, and Morini et al. (2015) suggested a role of this hormone in sexual maturation instead of feeding regulation.

For the first time, the expression of gene coding for leptin receptor was analyzed in glass eels. Unfortunately, we were unable to obtain primers that would allow the study of leptin transcription. In teleosts, LEP receptors are present in most tissues: they were detected in brain, pituitary, eyes, gills, skin, mesenteric fats, liver, ovaries, muscle, spleen, kidney, heart, intestine, and testes of fishes, including in other eel species (Gong et al. 2013, *Pelteobagrus fulvidraco*; Morini et al. 2015, *A. Anguilla* and *A. japonica*; Rønnestad et al. 2010, *Salmo salar*).

2.9 CONCLUSION

Our results show that lipolysis capacity clearly differs in glass eels migrating either to southern Nova Scotia or to the St. Lawrence estuary. Nothing in our results can relate these differences to growth or development stage, but differences in BAL and TAGL expression could be related to genetic differences between origins despite panmixia in American eel and caused by spatially varying selection (Gagnaire et al. 2012; Pavey et al. 2015). The high variability in the level of expression in GRB compared to MR glass eels supports a greater capacity for phenotypic plasticity related to the metabolism of lipids in estuarine glass eels. The advantage of such increased plasticity remains to be elucidated.

Because these two regions were previously associated with different ecotypes (Pavey et al. 2015), this could reflect genetic differences resulting in differential development and life history strategies during the glass eel stage. Glass eels migrating further north are better equipped to use their lipid reserves, which could be related to the longer migration route and to more advanced development. Since southern areas are mainly characterized by male production while the St. Lawrence system harbours nearly 100% females, this ability to use lipids may be sex related. However, this remains to be investigated in more detail.

2.10 ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to all who provided technical and scientific assistance in the laboratory and field, especially Brian Boivin, Marie-Ève Carpentier, Guillaume Côté, Aurélie Dupont-Prinet, Renée Gagné, Roberta Miller, Michèle Pelletier-Rousseau, Marion Pillet, and Sonia Robert. Special thanks to Martin Castonguay (Fisheries and Oceans Canada), who contributed to glass eel collection; Yvonne Carey (Atlantic Elver Inc.), who provided glass eels from Nova Scotia free of cost; Éric Parent (Fisheries and Oceans Canada), who helped with sequencing, and Bob Clarke, for valuable advice with multivariate statistics. Finally, the authors acknowledge L. Devine for amending a revised version of this manuscript and two anonymous reviewers. This research was supported by an NSERC grant (Strategic Partnership Program STPGP 397689-10) to LB and CA as well as by Ressources Aquatiques Québec research network (RAQ).

2.11 REFERENCES

Arai, T., 2012. Early life history and recruitment mechanisms of the freshwater eels genus *Anguilla*, in: N. Sachiko, M. Fujimoto (Eds.), *Eels: physiology, habitat and conservation*. Nova Science Publishers, Inc., New York, 91-115.

Boëtius, I., Boëtius, J., 1989. Ascending elvers, *Anguilla anguilla*, from 5 European localities. Analyses of pigmentation stages, condition, chemical composition and energy reserves. *Dana - A Journal of Fisheries and Marine Research* 7, 1-12.

Boivin, B., Castonguay, M., Audet, C., Pavey, S., Dionne, M., Bernatchez, L., 2015. How does salinity influence habitat selection and growth in juvenile American eels *Anguilla rostrata*? *Journal Fish Biology* 86, 765-784.

Brown, D.H., Cori, C.F., 1961. *The enzymes*. Academic Press, Inc., New York.

Buchet, V., Zambonino Infante, J.L., Cahu, C.L., 2000. Effect of lipid level in a compound diet on the development of red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae. *Aquaculture* 184, 339-347.

Bustin, S.A., Benes, V., Garson, J.A., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M.W., Shipley, G.L., Vandesompele, J., Wittwer, C.T., 2009. The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. *Clinical Chemistry* 55, 611-622.

Cairns, D.K., Chaput, G., Poirier, L.A., Avery, T.S., Castonguay, M., Mathers, A., Casselman, J.M., Bradford, R.G., Pratt, T., Verreault, G., Clarke, K., Veinott, G., Bernatchez, L., 2014. Recovery potential assessment for the American Eel (*Anguilla rostrata*) for eastern Canada: life history, distribution, reported landings, status indicators, and demographic parameters. DFO Canadian Science Advisory Secretariat Doc. 2013/134, 157.

Cairns, D.K., Shiao, J.C., Iizuka, Y., Tzeng, W.N., MacPherson, C.D., 2004. Movement patterns of American eels in an impounded watercourse, as indicated by otolith microchemistry. *North American Journal of Fisheries Management* 24, 452-458.

Castonguay, M., Hodson, P.V., Couillard, C.M., Eckersley, M.J., Dutil, J.-D., Verreault, G., 1994a. Why is recruitment of the American eel, *Anguilla rostrata*, declining in the St. Lawrence River and Gulf? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 51, 479-488.

Castonguay, M., Hodson, P.V., Moriarty, C., Drinkwater, K.F., Jessop, B.M., 1994b. Is there a role of ocean environment in American and European eel decline? *Fisheries Oceanography* 3, 197-203.

COSEWIC, 2012. Committee on the status of endangered wildlife in Canada assessment and status report on the American Eel *Anguilla rostrata* in Canada, Ottawa, 109.

Côté, C., Castonguay, M., Kalujnaia, M., Cramb, G., Bernatchez, L., 2014. In absence of local adaptation, plasticity and spatially varying selection rule: a view from genomic reaction norms in a panmictic species (*Anguilla rostrata*). *BMC Genomics* 15, 403.

Côté, C.L., Castonguay, M., Verreault, G., Bernatchez, L., 2009. Differential effects of origin and salinity rearing conditions on growth of glass eels of the American eel *Anguilla rostrata*: implications for stocking programmes. *Journal of Fish Biology* 74, 1934-1948.

Côté, C.L., Gagnaire, P.-A., Bourret, V., Verreault, G., Castonguay, M., Bernatchez, L., 2013. Population genetics of the American eel (*Anguilla rostrata*): $F_{ST} = 0$ and North Atlantic Oscillation effects on demographic fluctuations of a panmictic species. *Molecular Ecology* 22, 1763-1776.

Côté, C.L., Pavey, S.A., Stacey, J.A., Pratt, T.C., Castonguay, M., Audet, C., Bernatchez, L., 2015. Growth, female size, and sex ratio variability in American eel of different origins in both controlled conditions and the wild: Implications for stocking programs. *Transactions of the American Fisheries Society* 144, 246-257.

Figuerola, R.I., Rodríguez-Sabaris, R., Aldegunde, M., Soengas, J.L., 2000. Effects of food deprivation on 24 h changes in brain and liver carbohydrate and ketone body metabolism of rainbow trout. *Journal of Fish Biology* 57, 631-646.

Gagnaire, P.-A., Normandeau, E., Côté, C., Møller Hansen, M., Bernatchez, L., 2012. The genetic consequences of spatially varying selection in the panmictic American Eel (*Anguilla rostrata*). *Genetics* 190, 725-736.

Gaillard, M., Bernatchez, L., Tremblay, R., Audet, C., 2015. Regional variation in energy storage strategies in American glass eels from Eastern Canada. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 188, 87-95.

García, S., Luengo, J., Herrera, F., 2015. Data preprocessing in data mining. Springer. Berlin

Glencross, B.D., 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Reviews in Aquaculture* 1, 71-124.

Gong, Y., Luo, Z., Zhu, Q.-L., Zheng, J.-L., Tan, X.-Y., Chen, Q.-L., Lin, Y.-C., Lu, R.-H., 2013. Characterization and tissue distribution of leptin, leptin receptor and leptin receptor overlapping transcript genes in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. *General and Comparative Endocrinology* 182, 1-6.

Hallgren, N.K., Busby, E.R., Mommsen, T.P., 2003. Cell volume affects glycogen phosphorylase activity in fish hepatocytes. *Journal of Comparative Physiology B* 173, 591-599.

Haro, A.J., Krueger, W.H., 1988. Pigmentation, size, and migration of elvers (*Anguilla rostrata* (Lesueur)) in a coastal Rhode Island stream. *Canadian Journal of Zoology* 66, 2528-2533.

Harrison, A.J., Walker, A.M., Pinder, A.C., Briand, C., Aprahamian, M.W., 2014. A review of glass eel migratory behaviour, sampling techniques and abundance estimates in estuaries: implications for assessing recruitment, local production and exploitation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 24, 967-983.

Heming, T.A., Paleczny, E.J., 1987. Compositional changes in skin mucus and blood serum during starvation of trout. *Aquaculture* 66, 265-273.

Iijima, N., Tanaka, S., Ota, Y., 1998. Purification and characterization of bile salt-activated lipase from the hepatopancreas of red sea bream, *Pagrus major*. *Fish Physiology and Biochemistry* 18, 59-69.

Jessop, B. M., Shiao, J.-C., Iizuka, Y., Tzeng, W.-N., 2002. Migratory behaviour and habitat use by American eels *Anguilla rostrata* as revealed by otolith microchemistry. *Marine Ecology Progress Series*, 233, 217-229.

Jessop, B.M., 2010. Geographic effects on American eel (*Anguilla rostrata*) life history characteristics and strategies. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 67, 326-346.

Kaiya, H., Kojima, M., Hosoda, H., Riley, L., Hirano, T., Grau, E., Kangawa, K., 2003. Amidated fish ghrelin: purification, cDNA cloning in the Japanese eel and its biological activity. *Journal of Endocrinology* 176, 415-423.

Kurokawa, T., Koshio, M., Kaiya, H., Hashimoto, H., Nomura, K., Uji, S., Awaji, M., Gen, K., Tanaka, H., 2011. Distribution of pepsinogen- and ghrelin-producing cells in the digestive tract of Japanese eel (*Anguilla japonica*) during metamorphosis and the adult stage. *General and Comparative Endocrinology* 173, 475-482.

Kurokawa, T., Suzuki, T., Ohta, H., Kagawa, H., Tanaka, H., Unuma, T., 2002. Expression of pancreatic enzyme genes during the early larval stage of Japanese eel *Anguilla japonica*. *Fisheries science* 68, 736-744.

Laflamme, S., Côté, C., Gagnaire, P.-A., Castonguay, M., Bernatchez, L., 2012. RNA/DNA ratios in American glass eels (*Anguilla rostrata*): evidence for latitudinal variation in physiological status and constraints to oceanic migration? *Ecology and Evolution* 2, 875-884.

Lamson, H., Shiao, J.C., Iizuka, Y., Tzeng, W.N., Cairns, D., 2006. Movement patterns of American eels (*Anguilla rostrata*) between salt- and freshwater in a coastal watershed, based on otolith microchemistry. *Marine Biology* 149, 1567-1576.

Lee, N.-S., Kim, D.-J., Lee, B.-I., Kim, S.K., Kim, K.-K., 2015. Distribution of ghrelin immunoreactivity in artificially reared Japanese eel, *Anguilla japonica*, *leptocephalus* and metamorphosed glass eel. *Journal of Environmental Biology* 36, 521-529.

Lin, X., Volkoff, H., Narnaware, Y., Bernier, N.J., Peyon, P., Peter, R.E., 2000. Brain regulation of feeding behavior and food intake in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 126, 415-434.

Livak, K.J., Schmittgen, T.D., 2001. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method. *Methods* 25, 402-408.

MacGregor, R., Mathers, A., Thompson, P., Casselman, J.M., Dettmers, J.M., LaPan, S., Pratt, T.C., Allen, B., 2008. Declines of American eel in North America: complexities associated with bi-national management. *International Governance of Fisheries Ecosystems*. American Fisheries Society, 357-381.

Moon, T.W., 1983. Metabolic reserves and enzyme activities with food deprivation in immature American eels, *Anguilla rostrata* (LeSueur). *Canadian Journal of Zoology* 61, 802-811.

Morais, S., Cahu, C., Zambonino-Infante, J.L., Robin, J., Rønnestad, I., Dinis, M.T., Conceição, L.E.C., 2004.

Dietary TAG source and level affect performance and lipase expression in larval sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Lipids* 39, 449-458.

Morini, M., Pasquier, J., Dirks, R., van den Thillart, G., Tomkiewicz, J., Rousseau, K., Dufour, S., Lafont, A.-G., 2015. Duplicated leptin receptors in two species of eel bring new insights into the evolution of the leptin system in vertebrates. *PLoS ONE* 10, e0126008.

Murray, H.M., Gallant, J.W., Perez-Casanova, J.C., Johnson, S.C., Douglas, S.E., 2003. Ontogeny of lipase expression in winter flounder. *Journal of Fish Biology* 62, 816-833.

Olsson, C., Holbrook, J.D., Bompadre, G., Jönsson, E., Hoyle, C.H.V., Sanger, G.J., Holmgren, S., Andrews, P.L.R., 2008. Identification of genes for the ghrelin and motilin receptors and a novel related gene in fish, and stimulation of intestinal motility in zebrafish (*Danio rerio*) by ghrelin and motilin. *General and Comparative Endocrinology* 155, 217-226.

Olsvik, P.A., Lie, K.K., Jordal, A.-E.O., Nilsen, T.O., Hordvik, I., 2005. Evaluation of potential reference genes in real-time RT-PCR studies of Atlantic salmon. *BMC Molecular Biology* 6, 21.

Patton, J.S., Nevenzel, J.C., Benson, A.A., 1975. Specificity of digestive lipases in hydrolysis of wax esters and triglycerides studied in anchovy and other selected fish. *Lipids* 10, 575-583.

Patton, J.S., Warner, T.G., Benson, A.A., 1977. Partial characterization of the bile salt-dependent triacylglycerol lipase from the leopard shark pancreas. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism* 486, 322-330.

Pavey, Scott A., Gaudin, J., Normandeau, E., Dionne, M., Castonguay, M., Audet, C., Bernatchez, L., 2015. RAD sequencing highlights polygenic discrimination of habitat ecotypes in the panmictic American eel. *Current Biology* 25, 1666-1671.

Ramos, F., Smith, A.C., 1978. Ketone bodies in fish skin mucus as an indicator of starvation: a preliminary report. *Journal of Fish Biology* 12, 105-108.

Rønnestad, I., Nilsen, T.O., Murashita, K., Angotzi, A.R., Gamst Moen, A.-G., Stefansson, S.O., Kling, P., Thrandur Björnsson, B., Kurokawa, T., 2010. Leptin and leptin receptor genes in Atlantic salmon: Cloning, phylogeny, tissue distribution and expression correlated to long-term feeding status. *General and Comparative Endocrinology* 168, 55-70.

Singer, T.D., Mahadevappa, V.G., Ballantyne, J.S., 1990. Aspects of the energy metabolism of lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*, with special emphasis on lipid and ketone body metabolism. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 47, 873-881.

Soengas, J.L., Aldegunde, M., 2002. Energy metabolism of fish brain. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 131, 271-296.

Soengas, J.L., Strong, E.F., Andrés, M.D., 1998. Glucose, lactate, and β -hydroxybutyrate utilization by rainbow trout brain: changes during food deprivation. *Physiological Zoology* 71, 285-293.

Soengas, J.L., Strong, E.F., Fuentes, J., Veira, J.A.R., Andrés, M.D., 1996. Food deprivation and refeeding in Atlantic salmon, *Salmo salar*: effects on brain and liver carbohydrate and ketone bodies metabolism. *Fish Physiology and Biochemistry* 15, 491-511.

Tesch, F.-W., 2003. *The Eel*. Blackwell Science, Oxford.

Tocher, D.R., 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science* 11, 107-184.

Tocher, D.R., Sargent, J.R., 1984. Studies on triacylglycerol, wax ester and sterol ester hydrolases in intestinal caeca of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed diets rich in triacylglycerols and wax esters. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 77, 561-571.

Tseng, Y.-C., Huang, C.-J., Chang, J.C.-H., Teng, W.-Y., Baba, O., Fann, M.-J., Hwang, P.-P., 2007. Glycogen phosphorylase in glycogen-rich cells is involved in the energy supply for ion regulation in fish gill epithelia. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 293, R482-R491.

Tsukamoto, K., Nakai, I., Tesch, W.-V., 1998. Do all freshwater eels migrate? *Nature* 396, 635-636.

Unniappan, S., Peter, R.E., 2005. Structure, distribution and physiological functions of ghrelin in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 140, 396-408.

Vagner, M., de Montgolfier, B., Sévigny, J.-M., Tremblay, R., Audet, C., 2014. Effects of algae-enriched rotifers on winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) gene expression during metamorphosis. *Marine Biology* 161, 985-999.

Vandesompele, J., De Preter, K., Pattyn, F., Poppe, B., Van Roy, N., De Paepe, A., Speleman, F., 2002. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biology* 3, research0034.0031 - research0034.0011.

Volkoff, H., Canosa, L.F., Unniappan, S., Cerdá-Reverter, J.M., Bernier, N.J., Kelly, S.P., Peter, R.E., 2005. Neuropeptides and the control of food intake in fish. *General and Comparative Endocrinology* 142, 3-19.

Weltzien, F.-A., Pasqualini, C., Vernier, P., Dufour, S., 2005. A quantitative real-time RT-PCR assay for European eel tyrosine hydroxylase. *General and Comparative Endocrinology* 142, 134-142.

Zambonino Infante, J.L., Cahu, C.L., 1999. High dietary lipid levels enhance digestive tract maturation and improve *Dicentrarchus labrax* larval development. *The Journal of Nutrition* 129, 1195-1200.

Zambonino Infante, J.L., Cahu, C.L., 2001. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 130, 477-487.

CHAPITRE 3

ÉVALUATION DU CONTRÔLE ENDOCRINIEN SUR LA SÉLECTION DE L'HABITAT DES CIVELLES D'ANGUILLE D'AMÉRIQUE PAR LA TRANSCRIPTOMIQUE DE GÈNES CANDIDATS

3.1 RÉSUMÉ

Le stade civelle de l'anguille d'Amérique (*Anguilla rostrata*) débute la migration catadrome dans les habitats estuariens et d'eau douce. Cependant, les mécanismes endocriniens sous-jacents à la sélection de l'habitat ne sont toujours pas bien compris. Au moyen d'une approche gène candidat, l'objectif de cette étude était de déterminer 1) les différents patrons d'expression génique associés aux préférences de salinité ou 2) les différents patrons d'expression génique reliés au site de capture. Nous avons analysé l'expression de gènes codant pour des hormones clés ou leur récepteur, chez des civelles d'anguille d'Amérique capturées dans les estuaires de trois rivières sur la côte est du Canada (Grande-Rivière-Blanche dans l'estuaire du Saint-Laurent, Rivière-Saint-Jean de la péninsule de Gaspé et Mersey River en Nouvelle Écosse), et suivant leur préférence de salinité (eau saumâtre/salée/douce) déterminée en conditions contrôlées. Les transcrits des gènes codant pour la prolactine (PROL), la thyroïdostimuline (TSH- β), la déiodinase de type II (DIO-2), les récepteurs thyroïdiens (THR α_a , THR α_b), l'hormone de croissance (GH) et le facteur de croissance insulinique de type I (IGF-1), ainsi que leur récepteur (GH-R₁ et IGF-1R), ont tous été détectés chez les civelles. Aucune différence dans les patrons d'expression génique n'a été détectée relativement à la préférence de salinité mais des différences significatives ont été trouvées entre les rivières. Les civelles de la Rivière-Saint-Jean, les plus longues et les moins pigmentées, étaient caractérisées par de

plus fortes valeurs d'expression de la PROL, DIO-2 et $THR\alpha_a$ alors que celles de Grande-Rivière-Blanche par une plus forte expression de IGF-1R. Ces résultats confirment la présence d'interactions gènes \times environnement au niveau hormonal au moment de l'établissement des civelles dans les habitats continentaux.

Ce troisième article, intitulé « *Regional variation of gene regulation associated with storage lipid metabolism in american glass eel (*Anguilla rostrata*)* », fut corédigé par moi-même, les professeurs Céline Audet, Louis Bernatchez ainsi que le chercheur Scott Pavey. Il sera soumis pour publication sous peu aux éditeurs de la revue *General and Comparative Endocrinology*. En tant que premier auteur, ma contribution à ce travail fut l'essentiel de la recherche sur l'état de l'art, l'élaboration des hypothèses de travail, la collection des individus, le développement de la méthode, l'exécution des analyses, l'étude et l'interprétation des résultats et la rédaction de l'article. Scott Pavey, second auteur, a contribué de près à la détermination des séquences. Louis Bernatchez et Céline Audet, directeurs de recherche, ont fourni l'idée originale. Chacun des auteurs a contribué à l'organisation des paragraphes de l'article, la bonification de la discussion ainsi qu'à la révision de l'article.

Une version abrégée de cet article a été présentée au 144^{ème} congrès d'American Fisheries Society au 38^{ème} Larval fish conference à Québec (Canada), « *Hormonal regulation of upstream migration in American glass eels* » M. Gaillard, L. Bernatchez, et C. Audet à l'été 2014, ainsi que lors de deux réunions annuelles de Ressources Aquatiques Québec, toutes deux tenues à Québec (Canada), « *Les civelles d'Amérique qui migrent sur la côte est canadienne ont-elle toutes les mêmes caractéristiques physiologiques ?* » M. Gaillard, L. Bernatchez, et C. Audet à l'automne 2014 et « *Civelle, dis-nous où tu migres et nous te dirons l'écotype auquel tu appartiens* » M. Gaillard, L. Bernatchez, et C. Audet à l'automne 2015.

3.2 TESTING FOR AN ENDOCRINE CONTROL OF HABITAT SELECTION IN AMERICAN GLASS EEL BY MEAN OF CANDIDATE GENES TRANSCRIPTOMICS

Mélanie Gaillard^a, Scott A. Pavey^{bc}, Louis Bernatchez^b and Céline Audet^a

^aInstitut des sciences de la mer de Rimouski, Université du Québec à Rimouski, 310 Allée des Ursulines, Rimouski, Québec, G5L 3A1, Canada

^bInstitut de Biologie Intégrative et des Systèmes, Département de biologie, Université Laval, 1 030 avenue de la Médecine, Québec, Québec, G1V 0A6, Canada

^cDepartment of Biology, University of New Brunswick, Saint-John, New Brunswick, PO Box 5 050, E2L 4L5, Canada

3.3 ABSTRACT

The glass eel stage in American eel (*Anguilla rostrata*) marks the onset of the catadromous migration into estuarine or freshwater habitats and the endocrine mechanisms underlying this habitat selection are still not well understood. Using a candidate genes approach, the aim of this study was to test for 1) different patterns of gene expression related to salinity preferences and/or 2) different patterns of gene expression related to capture site. Analyses were performed revealing the expression of genes coding for key hormonal factors or their receptors on American glass eels collected at the mouths of three rivers on the east coast of Canada (Grande-Rivière-Blanche in the St. Lawrence estuary, Rivière-St-Jean on the Gaspé Peninsula, and Mersey River in Nova Scotia) that displayed different salinity preferences (brackish/salt/fresh water) in laboratory conditions. Transcripts from genes coding for prolactin, thyroid-stimulating hormone (TSH- β), type 2-iodothyronine deiodinase (DIO-2), thyroid receptors (THR α_a , THR α_b), growth hormone (GH), insulin-like growth factor of type 1 (IGF-1), and their respective receptors GH-R $_1$ and IGF-1R were all detected in glass eels. No differences in the expression patterns were detected related to salinity preference, but strong differences were found among rivers. The Rivière-St.-Jean glass eels, which were the longest and the least pigmented among the three rivers, were characterized by the highest expressions of prolactin (PROL), DIO-2, and THR α_b , while those from Grande-Rivière-Blanche showed an increase in IGF-1R. Overall, these results confirm gene \times environment interactions at the hormonal level at the time when glass eels settle into their continental habitat.

3.4 KEYWORDS

Anguilla rostrata, ecotype, phenotypic plasticity, prolactin, deiodinase, somatotropic axis

3.5 INTRODUCTION

The glass eel stage marks the end of the oceanic migration of the leptocephalus larvae and the onset of catadromous migration into estuarine or freshwater habitats (Cairns et al. 2004; Jessop et al. 2002; Pavey et al. 2015; Tesch 2003). Osmoregulatory capacities of glass eels have been documented in European (*Anguilla anguilla*; Birrell et al. 2000; Wilson et al. 2007), Japanese (*A. japonica*; Sasai et al. 2007), and American (*A. rostrata*; Forrest et al. 1973) eel species when transferred or acclimated to different salinities.

In European glass eel, facultative catadromy has been suggested to be under endocrine control, and different ecotypes (freshwater vs. brackish/saltwater) were associated with differences in osmoregulatory ability. Glass eels exhibiting freshwater preference were also characterised by high locomotor activity, and poor growth performance—traits that were described as promoting the colonization of fresh waters (Edeline et al. 2005b). This ‘freshwater ecotype’ also had high thyroid gland activity (higher plasma levels of thyroxin compared to triiodothyronine) and high thyroid hormone levels relative to glass eels of the ‘saltwater ecotype’ (Edeline et al. 2004). Edeline et al. (2005a) also showed that immersion in thyroxin enhanced locomotor activity while immersion in thiourea modified rheotaxis, supporting an active role of thyroid hormones during glass eel migrations. Thyroid hormones should also play a role in the regulation of metamorphosis. Indeed, in the Japanese eel, thyroid follicles are present at the leptocephalus stage, but thyroid stimulating hormone – thyroid hormones regulation is initiated during metamorphosis from leptocephalus to glass eel (Ozaki et al. 2000; Yamano et al. 2007). In contrast to those with a freshwater ecotype, brackish/saltwater ecotypes of European glass eels exhibited brackish/saltwater preference, low locomotor activity, high growth performance (Edeline et al. 2005b), and low thyroid activity with low thyroid hormone levels, especially thyroxin (Edeline et al. 2004). Weak thyroid activity was hypothesized to affect sensitivity to olfactory cues, intestine development, and rheotaxis (Edeline 2005). Based on results obtained in the European eel, Edeline et al. (2009) proposed a strategy related to condition to be underlying the expression of different ecotypes.

A recent population genomics study on American eel showed that eels colonising fresh water and brackish/saltwater can be genetically distinguished and reclassified with high accuracy (Pavey et al. 2015). Rearing of glass eels in different salinity conditions also resulted in different growth performance according to their geographic origin (Côté et al. 2009). In addition, transcriptomic differences were observed for polygenic traits and genes involved in many physiological functions related to both salinity rearing conditions and glass eel origin (Côté et al. 2014). However, using American glass eels captured at different locations on the Canadian east coast, Boivin et al. (2015) showed that although most did not make a choice between fresh and salt water, they did usually preferred fresh water, independently of their geographic origin.

The aim of this study was to verify whether differences in endocrine patterns were associated with differences in habitat selection of American glass eels. Considering the model for European eel (Edeline et al. 2009), we predicted that American glass eels with freshwater preference would have a higher expression of thyroid function and lower expression of the somatotrophic axis compared to those exhibiting a brackish/saltwater preference. We also predicted that growth hormone regulation patterns should differ between freshwater and marine ecotypes in glass eels migrating to the Canadian east coast. Using glass eels captured before their entrance into rivers located either on the Atlantic Coast or in the St. Lawrence estuary and exhibiting different growth patterns (Boivin et al. 2015; Gaillard et al. 2015), we also hypothesized that higher expressions of the somatotrophic axis would be present in those from the southern location (smaller and heavier glass eels) compared to the northern ones. Since the St. Lawrence estuary glass eels were associated with the freshwater ecotype (Pavey et al. 2015), we hypothesized that expression of prolactin and the thyroïdal axis would be higher in these compared to eels from the Atlantic coast (brackish/saltwater ecotype). Finally, using glass eels exhibiting different salinity preferences, we tested whether the endocrine model underlying the expression of salinity preference suggested by Edeline et al. (2005; 2009) for European glass eel could apply to American eel.

3.6 MATERIALS AND METHODS

3.6.1 SAMPLING

Glass eels were captured during new and full moon at their earliest arrival (Boivin et al. 2015) in the estuaries of three east coast Canadian rivers at different upstream distances relative to the Sargasso Sea (Figure 18): Mersey River (MR), Nova Scotia, 26–28 March, 20–21 April 2012 (n = 3209); Rivière-Saint-Jean (RSJ), Québec, 16–21 May, 28 May – 3 June 2012 (n = 636); and Grande-Rivière-Blanche (GRB), Québec, 2–6 June, 18–21 June 2012 (n = 1657). At MR, glass eels were captured by a commercial elver fishery; at GRB, glass eels were captured with fish nets; and at RSJ, glass eels were captured in the river estuary using two trap nets operated by the Ministère Forêt Faune et Parcs (see Boivin et al. 2015).

After determining their salinity preference (Boivin et al. 2015), 90 individuals, i.e., 10 glass eels with a preference for brackish water (BW), 10 with a preference for fresh water (FW), and 10 with a preference for salt water (SW) from each river (GRB, RSJ, MR) were analyzed (Figure 18). Glass eels were individually anaesthetized in 0.68 mM MS-222 (ethyl 3-aminobenzoate methanesulfonate; Sigma-Aldrich). Total body length (from the tip of the snout to the tip of the caudal fin; ± 1 mm) and wet mass (± 1 mg) were measured. Pigmentation stage was determined according to Haro and Krueger (1988). Glass eels were rinsed with brackish water, gently blotted dry, transferred to 1.5 μ l tubes filled two-thirds full with RNAlater® (Sigma-Aldrich®, ON, Canada), and kept frozen overnight at 4°C before being stored at -20°C until molecular analyses.

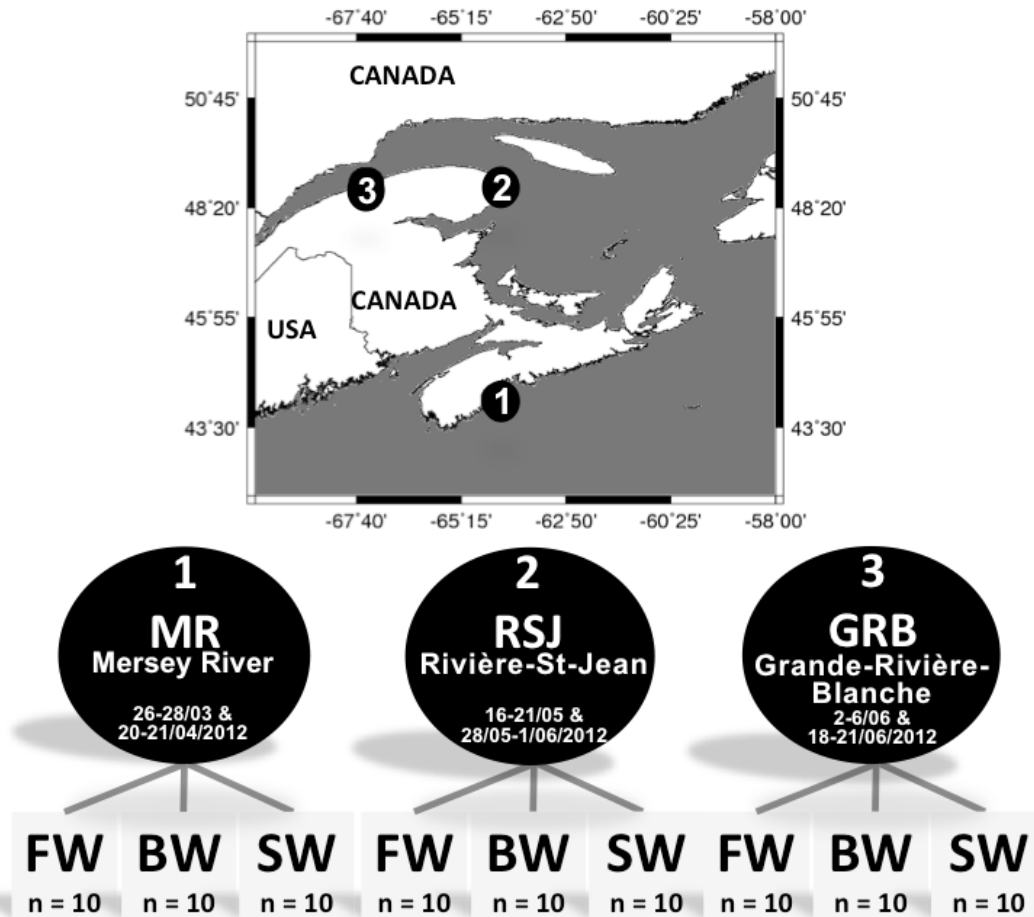


Figure 18 **Map showing sampling sites and experimental design** 1: Mersey River, Nova Scotia (MR); 2: Rivière-Saint-Jean, Gulf of St. Lawrence, Québec (RSJ); 3: Grande-Rivière-Blanche, St. Lawrence River, Québec (GRB). The dates of capture and a schema representing the experimental design (10 glass eels per river and per salinity preference; Boivin et al. 2015) are also shown.

3.6.2 CANDIDATE AND REFERENCE GENES

Nine candidate genes were studied: thyroid stimulating hormone β (TSH- β), Type 2-iodothyronine deiodinase (DIO-2), thyroid hormone receptors α_a and α_b (THR α_a and THR α_b), prolactin (PROL), growth hormone (GH) and its receptor 1 (GH-R1), and insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and its receptor (IGF-1R). TSH- β stimulates the thyroid gland to produce thyroxin (e.g., MacKenzie et al. 2009); DIO-2 is the major isoform that converts the pro-hormone thyroxin into bioactive triiodothyronine (e.g., Gomes et al. 2014); and THR α_a and THR α_b mediate the biological activity of thyroid hormones binding with triiodothyronine (e.g., Gomes et al. 2014). PROL is well known for its central role in freshwater osmoregulatory processes (ionic and osmotic balance) (Manzon 2002; Sakamoto and McCormick 2006). GH stimulates growth through IGF-1 activation, has a direct effect on growing tissues, and regulates lipid mobilization (e.g., Dai et al. 2015). GH-R₁ binds specifically with GH to initiate the actions of GH (Ozaki et al. 2006a; 2006b). In fishes, IGF-1 mediates the action of GH, which promotes somatic growth during cellular differentiation and mitogenesis processes in muscle tissues, during development of the nervous system, and in bones, and it has a critical role in neural induction by binding with IGF-1R, which triggers its actions (Dai et al. 2015; Escobar et al. 2011; Perrot et al. 1999). GH and IGF-1 are also associated with saltwater acclimation (e.g., Sakamoto and McCormick 2006).

The use of only one reference gene in qPCR analyses is not recommended (Bustin et al. 2009), and the expression of reference genes can vary from one tissue to another (Olsvik et al. 2005). Vandesompele et al. (2002) recommended the use of three reference genes for the reliable normalization of a pool of normal tissues in order to avoid relatively large errors caused by the use of one reference gene. Based on previous eel studies (Weltzien et al. 2005; Gaillard et al. 2016), the reference genes chosen for the present work were acidic ribosomal protein (ARP), cytochrome B (CytB), and elongation factor 1 (EF1).

3.6.3 WHOLE-BODY GRINDING

Glass eels were individually dry-homogenized with liquid nitrogen using a Precellys dual homogenizer coupled with a cooling system (Precellys, Bertin Technologies) in CKMix 50 R containing beads for hard-tissue grinding. Samples were ground using three cycles of 26 s at 5800 rpm, and cycles were separated by 30 s. The resulting powder was held at -80°C until RNA extraction.

3.6.4 TOTAL RNA EXTRACTION

RNA was extracted from 10 mg (dry mass) of homogenate powder using the RNeasy® Fibrous Tissue Kit (Quiagen Inc., ON, Canada) and was diluted to obtain a final concentration of $200\text{ ng }\mu\text{l}^{-1}$. RNA purity, quality, and concentration were determined using electrophoresis on 2% agarose gel stained with ethidium bromide (0.05 mg ml^{-1}) (Alpha Imager® HP System, Alpha-Innotech; Alpha Imager 3400 software, Protein Simple) and a 260 nm / 280 nm absorbance ratio (NanoVue Plus spectrophotometer, GE Healthcare, QC, Canada).

3.6.5 REVERSE TRANSCRIPTION

Reverse transcription was done in duplicate using the Quantitect® Reverse Transcription Kit (Qiagen Inc., ON, Canada). The cDNA samples obtained were diluted to a final concentration of $20\text{ ng }\mu\text{l}^{-1}$, separated into aliquots, and kept frozen at -20°C until further analysis. cDNA integrity and concentrations were verified using a NanoVue Plus spectrophotometer. Reverse transcriptase efficiency was verified using serial dilutions of a pool of four RNA samples from different origins and dates of capture and compared with the ideal slope of -3.3 . qPCR analyses were performed in triplicate (Bio-Rad MyiQ iCycler, Bio-Rad Laboratories, Inc., ON, Canada) using IQ™ SYBR® Green Supermix (Bio-Rad Laboratories Inc., ON, Canada) and an iCycler iQ™ Real-Time PCR on one reference gene (EF1) and one candidate gene (PROL).

Linear regression of the serial dilution curves were done with MyiQ Software v 1.0 (Bio-Rad, USA), giving an efficiency of 94.5% for the reference gene ($y = -3.4603x + 10.341$; $r: 0.997$) and 97.4% for the candidate gene ($y = -3.3187x + 22.533$; $r: 0.935$).

3.6.6 SPECIFIC SEQUENCES AND DESIGN OF TAQMAN PRIMERS AND PROBES

Except for the IGF-1R sequence which was obtained from the draft annotated American Eel genome (Pavey et al., unpublished data), primers were designed using Primer-Blast for each reference and candidate gene of interest based on available mRNA sequences from genus *Anguilla* found in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) bank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>; website accessed 23-11-2015). Primers were ordered from Integrated DNA Technologies™ (Coralville, IA, USA) and diluted to 20 μ M before use. GenBank numbers for sequences were found on the NCBI website, and forward and reverse primer sequences are reported in Table 7. A pool of randomly chosen cDNA samples (rivers and salinity preferences) was used with primers for amplifications (all in duplicate) by polymerase chain reaction (PCR) with iCycleriQ™ Real-Time PCR (Bio-Rad, USA) using the Ampli Taq Gold® 360 Master Mix Kit (Applied Biosystems, CA, USA). The quality and integrity of each PCR product or amplicon were verified by electrophoresis on 2% agarose gels with ethidium bromide (0.05 mg ml⁻¹) containing a PCR marker (Sigma-Aldrich®, ON, Canada). Single fragments were obtained for all reference and candidate genes except for THR α_a , for which two fragments were obtained. Both THR α_a amplicons were isolated with the Ezna® Gel Extraction Kit (Omega Bio-Teck, GA, USA) before purification and were thereafter treated separately. Amplicons were purified on columns using the QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen Inc., ON, Canada), and purified amplicons were sequenced in forward and reverse directions with associated primers and the Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, CA, USA). Unincorporated dye terminators from sequencing reactions were removed using the Ultra-Step® Dye Terminator Removal Kit (Omega Bio-Teck, USA). Isolated fragments containing dye-labeled dideoxynucleotide triphosphates (ddNTPs) were dried for 20 min using a Speed Vac (Savant AS 160 Automatic) and suspended in

fomamide; fragments were analyzed using a 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems-Hitachi) and POP-7™ polymer (Life Technologies™, ON, Canada). Sequence assembly and alignment verification were done with Sequencher 5.2.4 software (Genes Codes Inc.). Annexe II reports specific sequences obtained for each gene. Except for IGF-1R, the percentages of homology between sequences obtained from glass eels and sequences from GenBank are also presented in Annexe II. For THR α_a , the longest sequence that showed the highest homology score was retained for the study. TaqMan probes were designed using Primer Express 3.0 software (Applied Biosystems®) and were obtained from Life Technologies™ (Mairway, ON, Canada) (Table 7).

3.6.7 REAL-TIME PCR ASSAYS AND QUANTIFICATION

qPCR were performed in triplicate on glass eel samples with the ABIPRISM® 7900 HT Sequence Detection System (Applied Biosystems®). Ten μ l of sample reaction was made up of 2 μ l cDNA (10-2 ng μ l⁻¹), 5 μ l TaqMan Advanced Mix (Life Technologies™, ON, Canada), 2.5 μ l sterile water, and 0.5 μ l TaqMan probe specific to a gene (Life Technologies™, ON, Canada). Thermal cycling of qPCR consisted of two steps: 1) 2 min at 50°C for optimal AmpErase® uracil-N-glycosylase activity followed by 10 min at 95°C to activate the AmpliTaq Gold® DNA Polymerase, and 2) 45 cycles of denaturing at 95°C for 30 s and annealing/extend at 60°C for 1 min. Cycle thresholds (C_T) were obtained using Expression Suite 1.0 software (Applied Biosystems, Foster City, CA). Relative quantification of gene expression was calculated according to the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method of Livak and Schmittgen (2001): $2^{-\Delta\Delta C_T} = 2^{-(\Delta C_{T_e} - \Delta C_{T_c})}$ where $C_{T_e} = C_T$ candidate gene – C_T reference genes for sample x and $C_{T_c} = C_T$ candidate gene – C_T reference genes for the calibrator. In this study, the calibrator was the group of glass eels sampled at MR (the most southern river) that exhibited BW preference (absence of choice for either FW or SW). Non-detectable expressions (threshold cycles greater than 38) were given the same C_T value of 40 instead of eliminating fish that showed no expression, thus avoiding an overestimation of the global expression level. For this reason, normalization for prolactin and TSH- β were above 1.0.

Table 7 List of the GenBank accession numbers identifying species' sequences used for primer design (forward [F] and reverse [R] primers are presented) used to sequence each gene before designing Taqman. The exception was IGF-1R, which was obtained from the draft annotated genome of American eel. Taqman forward (F) and reverse (R) primers and probes (P) used for American eel (*Anguilla rostrata*) in quantitative polymerase chain reaction (qPCR) analysis are presented for each reference and candidate gene following by their qPCR efficiency (equation of linear regression and its coefficient of determination, R^2)

Gene	GenBank access. no.	Forward and reverse primers used for sequencing	Taqman forward, reverse, and probes used for qPCR	qPCR efficiency
Reference genes				
Acidic ribosomal protein, ARP	<i>A. anguilla</i> (AY763793)	F: GCCACGTGGAAGTCCAAC R: CAGGAGTTTCTCCAGAGCGG	F: TCTCCCTGCGTGCAAAGG P: TGGTGCTGATGGGG R: CTTGCGCATCATGGTGTCT	$y = -3.1958x + 34.388$ $R^2 = 0.99926$
Cytochrome B, CytB	<i>A. anguilla</i> (AF006714)	F: CATCTGCCGAGACGTCAACT R: ATCTGCCCTCATGGAAGCAC	F: TCATCTGCCGAGACGTCAAC P: ATGGATGATTAATTCGC R: GAGGCCCCATTGCATGTAG	$y = -3.1254x + 32.523$ $R^2 = 0.99922$
Elongation factor 1, EF1	<i>A. japonica</i> (AB593812)	F: CCTGAAGCCTGGTATGGTGG R: TACGTTGCCACGACGGATT	F: TTGCCCTGCCAACGT P: ACCACTGAGGTCAAGTC R: GGGACTCATGGTGCATTCC	$y = -3.3354x + 33.755$ $R^2 = 0.99974$
Candidate genes				
Prolactin, PROL	<i>A. anguilla</i> (X69149)	F: CTTCCCTCCAAACCCTCAC R: CCTGGAGGAGGAGCCAATC	F: GGCGCCATCTACAGAAAAC P: AGGGAAGTGCAGGACC R: CCCAGAGCTCAGGCTGTTG	$y = -3.2675x + 29.078$ $R^2 = 0.98724$
Thyroid stimulating hormone β , TSH- β	<i>A. japonica</i> (AY158008.1)	F: GCCCTCCAAGATGAGAGTGG R: GCAGACTGGAGGCTCTTACC	F: GCAGGACAGGTTCTCTCCATCT P: CCTGTGGACTACACGCT R: TCACACTCTGGTTTCTCCACGTA	$y = -3.2842x + 28.009$ $R^2 = 0.98643$
Thyroid hormone receptors α_a , THR α_a	<i>A. japonica</i> (AB678206.1)	F: TCGTTTTGTTGCAGGGGTTG R: CTTTCATTGGCAAGCTCCCG	F: CGATGCAGAAAGTGGTGATACC P: TGAGACCAGCCGCTC R: CAAATCTCCACTGCTTGTCTCA	$y = -3.6152x + 24.467$ $R^2 = 0.99738$
Thyroid hormone receptors α_b , THR α_b	<i>A. japonica</i> (AB678207.1)	F: CTCACGTGCGTGGAGAAGAT R: GTCTGCTTACACCTCCTGG	F: GCTGGCGTTCGAACACTACA P: AACTACCGCAAGCACA R: TGGGCCAGAAAGTGAGGAATG	$y = -3.1052x + 40.300$ $R^2 = 0.99847$
Type 2-iodothyronine deiodinase, DIO-2	<i>A. japonica</i> (AB199797.1)	F: AAGCTGGGCTTCAGTAGCAG R: CCTCTGAGCAGCCAGAACTC	F: CTGCTGGACTTTGCGTTCAT P: CGACCGTCTTTAGTG R: GTGGCCGAGCCAAAGTTG	$y = -3.3820x + 40.970$ $R^2 = 0.99624$
Growth hormone, GH	<i>A. anguilla</i> (AY616666.1)	F: CCCAGGTTAAGGGGCTGATG R: CAAGCCCAATCCCTCACACA	F: ATCTCCTCAGCCCTGATCCA P: TCATGGGTGTATCCTC R: AAGCATCGTCCAGGTCTTC	$y = -3.1047x + 25.839$ $R^2 = 0.99967$
Growth hormone receptor 1, GH-R $_1$	<i>A. japonica</i> (AB180476.1)	F: CATCTTACCCCTTGCTGT R: TACTGGGTCCAGACGGATGT	F: GGGTCTTCTTCGCCACTAGCT P: CTGCCAGCGACTG R: TGACCGAGTAGTCCGGACACT	$y = -3.3030x + 38.281$ $R^2 = 0.99985$
Insulin like growth factor 1, IGF-1	<i>A. japonica</i> (AB353115.1)	F: GCTGCAGTTTGTGTGGAG R: TCTGATGCACCTCCTTGACG	F: CAGGCTATGGATCCAGCTCAA P: ACGGTCACACAATCG R: GCAGCACTCGTCGACTATGC	$y = -3.3309x + 25.418$ $R^2 = 0.99202$
Insulin like growth factor 1 receptor, IGF-1R	<i>A. rostrata</i> .	Pavey, unpublished data	F: CGAGCGCATCGAGTTCCCT P: AACGAGGCGTCCGTC R: GGTGGCAGTTGAACTCCTCA	$y = -3.2673x + 40.298$ $R^2 = 0.99755$

3.6.8 qPCR VALIDATION

qPCR efficiency was verified for each TaqMan probe (all $R^2 > 0.98$; Table 7). A serial dilution of 10^{-1} to 10^{-5} or, when the signal was low, 4^{-1} to 4^{-5} (IGF-1, $\text{THR}\alpha_a$) or 2^{-1} to 2^{-5} (PROL, TSH- β), was performed on a new pool of eight randomly selected cDNA samples within samples of different origin and salinity preference. qPCR analyses for each TaqMan probe were performed on the pool with the same protocol described above, except that the 2 μl cDNA (10^{-2} ng μl^{-1}) was replaced by 2 μl of the pooled cDNA. Suitability, stability, and validation of quantitative qPCR reference genes were verified with Expression Suite 1.0 software, where the score was calculated according to Vandesompele et al. (2002). The score is a gene stability measure in qPCR analyses that may vary with tissues: the lower the score, the more stable the expression is.

3.6.9 LE CREN CONDITION INDEX AND STATISTICAL ANALYSES

The Le Cren condition index (Kn) was calculated as described in Gaillard et al. (2015). Linear regressions of log₁₀-transformed length and wet mass were made using data from all individuals that expressed a salinity preference ($n = 1443$). The constants were determined from the regression line obtained ($y = -5.4551 + 2.6137 x$; $r^2 = 0.50$; $n = 1143$). The residual distribution of Kn was verified by fitting a Henry line ($F_{1, 1140} = 1786.65$; $p < 0.0001$; $r^2 = 0.61$). As demonstrated by Gaillard et al. (2015), Kn is both a condition index and an indicator of triacylglycerol and glycogen content. Because Gaillard et al. (2015) already showed that Kn, wet mass, length, and pigmentation stage did not differ according to salinity preference, only the presence of river effect was tested for these variables.

The relative quantification of gene expression ($2^{-\Delta\Delta C_T}$) for the nine candidate genes was analyzed using two-way permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA; $\alpha < 0.05$, 9999 permutations, type III sums of square) with the PERMANOVA+ add-on (v 1.02) in PRIMER (v 6.1.1.12). The two fixed factors were river

(level = 3) and salinity (level = 3). Missing data (29 data out of 810) were replaced by the mean of the subsample in a salinity preference – river group (García et al. 2015). Distance-based tests for homogeneity of multiple dispersions (PERMDISP) were verified for the two factors to determine if data needed transformation, and we found that no transformations were required (river: $F = 1.7571$, p [perm] = 0.2421; salinity: $F = 1.1642$, p [perm] = 0.3832). Thus a Bray-Curtis similarity matrix was constructed for relative gene expression data. When PERMANOVA tests detected a factor effect, pair-wise comparisons were done. Finally, to explore dissimilarities between groups, we performed multidimensional scaling plot analysis (MDS). Similarity percentage analysis (SIMPER) was also run to identify the relative contribution of each gene and biological trait to the differences observed within one factor. Because SIMPER results were similar to those obtained with the MDS (results not shown), only the MDS results are presented. For each candidate gene, one-way ANOVAs ($\alpha = 0.05$) were run to test for specific differences in gene expression or biological traits using STATISTICA v 10.0 software (<http://www.statsoft.com>; website accessed 21-11-2015) when PERMANOVA indicated significant factor effects. ANOVAs were followed by Tukey multiple comparison tests ($p < 0.05$). Normality and homoscedasticity of data were verified with the Kolmogorov–Smirnov and Levene tests, respectively. Pigmentation index data were analyzed with the non-parametric Kruskal-Wallis test.

3.7 RESULTS

3.7.1 GENE EXPRESSION AND SALINITY PREFERENCE

The gene-stability measures for the three reference genes were 0.786, 0.836, and 0.714 for ARP, CytB, and EF1, respectively (calculated using ExpressionSuite software). The three reference genes exhibited very little variation among subsamples (Figure 19).

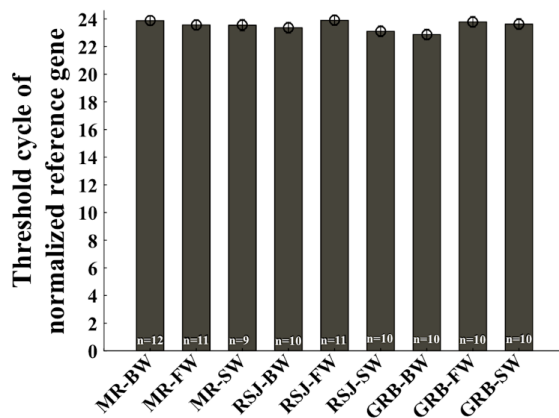


Figure 19 **Average threshold cycle (C_T) for the normalized reference gene (geometric mean of the C_T of the three reference genes) within each experimental group** (three rivers: Mersey River [MR]; Rivière-Saint-Jean [RSJ]; Grande-Rivière-Blanche [GRB] and glass eels exhibiting salinity preference for brackish [BW], fresh [FW], or salt [SW] water within each river).

At the glass eel stage, no salinity preference was associated with the expression of any candidate gene since no factor or interaction effects were detected (salinity preference: $df = 2$, pseudo- $F = 0.92891$, p (perm) > 0.05 ; salinity preference \times river: $df = 4$, pseudo- $F = 1.2209$, p (perm) > 0.05). However, gene expression differed according to the river of capture (river: $df = 2$, pseudo- $F = 4.1295$, p (perm) < 0.0005), and the patterns observed differed significantly among the three rivers. Regional differences were the most apparent between RSJ and MR glass eels (pairwise tests: GRB & MR: $t = 1.5866$, p (perm) < 0.05 ; GRB & RSJ: $t = 2.0927$, p (perm) < 0.005 ; MR & RSJ: $t = 2.3426$, p (perm) < 0.001). The MDS analyses confirmed this result (Figure 20). Differences in the expression of PROL, DIO-2, and GH on the MDS horizontal axis and the expression of TSH- β and IGF-1R explained most of the differences among rivers. The expression of TSH- β and IGF-1R were strongly positively correlated, and a positive correlation was also observed between DIO-2 and PROL (Figure 20A, C). MDS results suggested that high expression of DIO-2 and PROL characterized the RSJ glass eels, while those from GRB were characterized by stronger expression of IGF-1R, TSH- β , and GH (Figure 20A, C).

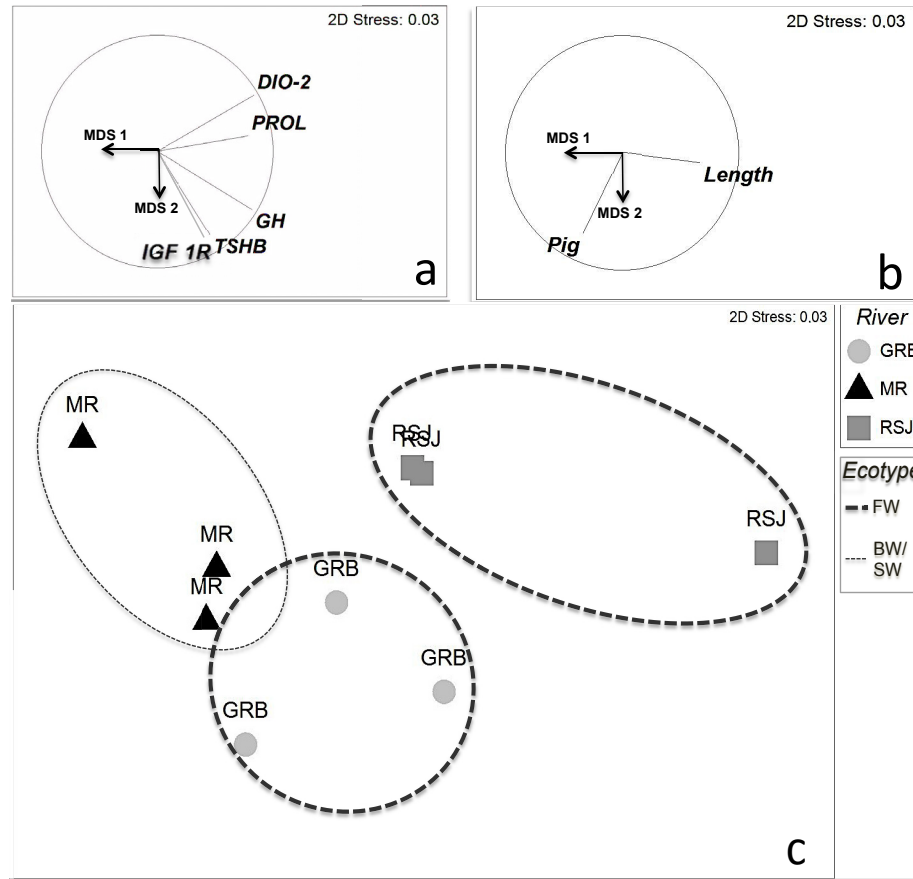


Figure 20 **Multidimensional scaling (MDS) of Bray-Curtis similarities from the gene expression database with vector plots.** Vector plot figures (a, b) characterize the grouping on the MDS plot, i.e., the direction of the vectors is dictated by elevated (a) gene expressions and (b) high biological trait measurements. Each river was averaged by the factor river \times salinity to maximize readability on the 2-D ordination (c). Only vector plots that had an elevated Spearman correlation with grouping of the MDS, that is those that contributed the most to dissimilarities between rivers, are shown ($\rho > 0.6$). Spearman correlations of the vector plots were (a) $\rho = -0.84$ for type 2-iodothyronine deiodinase (DIO-2), $\rho = -0.93$ for prolactin (PROL), $\rho = -0.71$ for growth hormone (GH), $\rho = -0.40$ for thyroid stimulating hormone β (TSH- β), and $\rho = -0.30$ for insulin-like growth factor 1 receptor (IGF-1R) on the horizontal axis of MDS 1, and $\rho = -0.37$ for DIO-2, $\rho = -0.09$ for PROL, $\rho = 0.55$ for GH, $\rho = -0.62$ for TSH- β , and $\rho = 0.82$ for IGF-1R on the vertical axis of MDS 2; (b) $\rho = -0.64$ for length, $\rho = 0.75$ for pigmentation stage (Pig.) on MDS 1 axis, and $\rho = -0.74$ for length, $\rho = -0.11$ for Pig. on MDS 2 axis. GRB: Grande-Rivière-Blanche; MR: Mersey River; RSJ: Rivière-Saint-Jean. Large dashed circles indicate freshwater ecotype, FW and light dashed circle indicates brackish/saltwater ecotype, BW/SW.

PROL expression was 10.3 times higher in RSJ glass eels than in the calibrator (MR-brackish water preference), while PROL expression in MR and GRB were similar and close to the expression level observed in the calibrator group (Figure 21A). DIO-2 expression was 2.7 higher in RSJ glass eels compared to the calibrator group, and this expression level was significantly higher than those observed in the two other rivers (although DIO-2 was 1.7 higher in GRB than in MR; Figure 21B). GH expression was 2 and 2.4 higher in the glass eels from RSJ and GRB compared to the calibrator group and significantly higher than the value observed in MR glass eels (Figure 21C). IGF-1R expression was 1.3 times higher in GRB glass eels compared to the calibrator group, and this level was significantly higher than observed in the other two rivers (Figure 21D). Contrary to our prediction however, the expression of TSH- β did not differ among rivers (Figure 21E). THR α_b expression in RSJ was slightly more elevated (1.64) than in the calibrator group and significantly higher than levels measured in MR and GRB glass eels (Figure 21F). Finally, the expression of GH-R $_1$ was significantly higher (1.3) in RSJ compared to MR, with intermediate expression levels in GRB (Figure 21G). Again, expression in MR was very close to that of the calibrator. The expressions of THR α_a (Figure 21H) and IGF-1 (Figure 21) were similar among rivers.

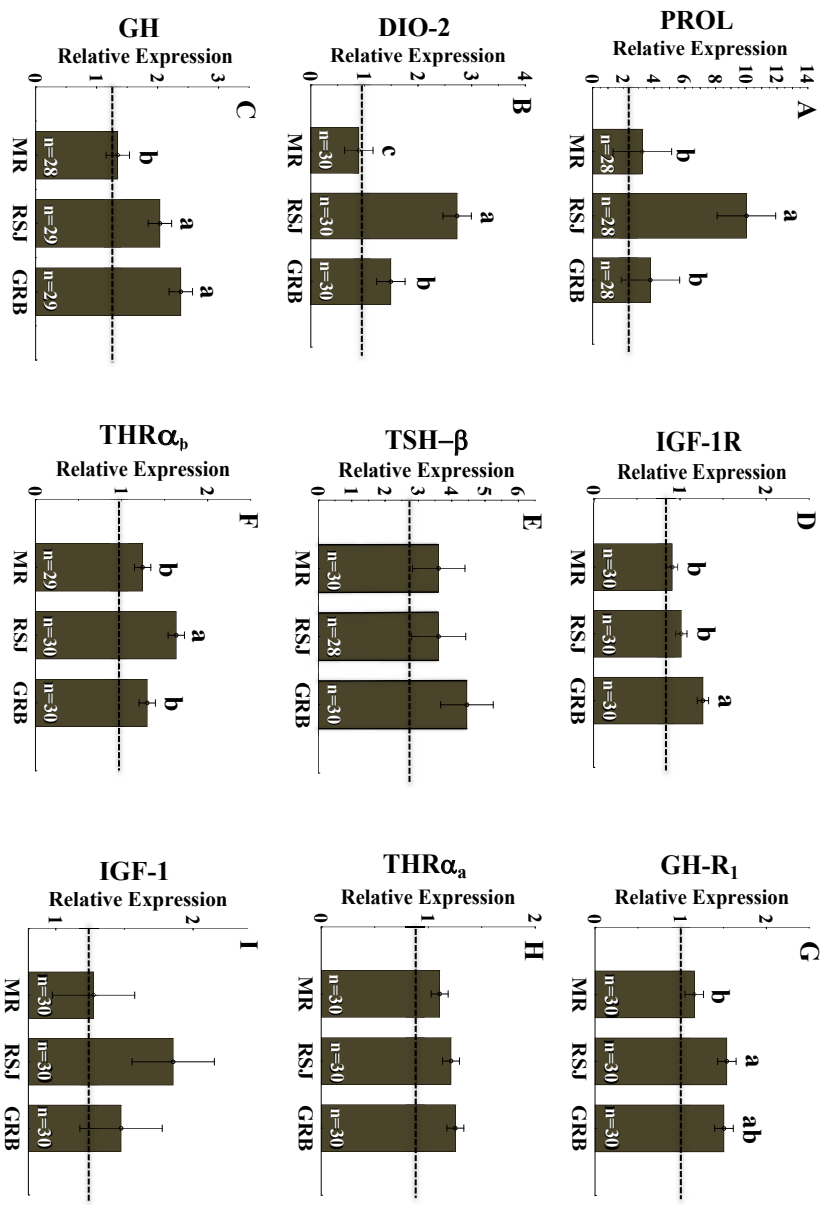


Figure 21 **Relative changes in gene expression of nine candidate genes in glass eels captured in the Mersey River (MR), Rivière-St-Jean (RSJ), and Grande-Rivière-Blanche (GRB).** The calibrator values (indicated by horizontal lines) were determined from MR glass eels with a preference for brackish water (mean \pm SE): A) Prolactine (PROL), B) type 2-iodothyronine deiodinase (DIO-2), C) growth hormone (GH), D) insulin-like growth factor 1 receptor (IGF-1R), E) thyroid stimulating hormone β (TSH- β), F) thyroid hormone receptor α_b (THR α_b), G) growth hormone receptor 1 (GH-R $_1$), H) thyroid hormone receptor α_a (THR α_a), and I) insulin-like growth factor 1 (IGF-1). The dashed horizontal lines indicate the normalized values for the calibrator group. Different letters indicate significant differences among rivers (one-way ANOVA, $\alpha = 0.05$)

3.7.2 PHENOTYPIC TRAITS

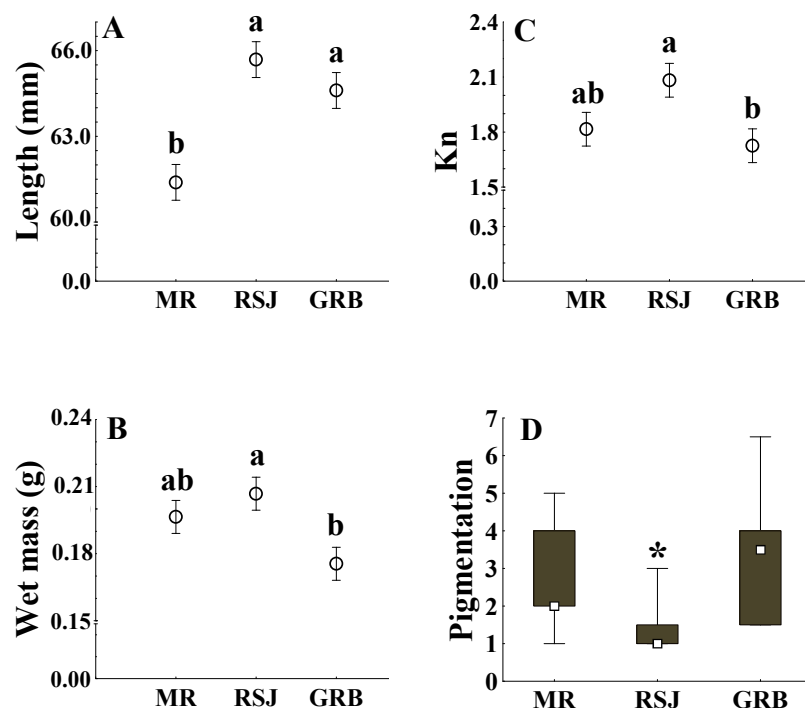


Figure 22 **Biological trait measurements: (A) length, (B) wet mass, (C) Le Cren condition index, Kn, and (D) pigmentation stage.** MR: Mersey River, RSJ: Rivière-St-Jean, GRB: Grande-Rivière-Blanche. Mean \pm SE are presented for (A), (B), and (C). A box plot of the median, 25 and 75% percentiles, minimum and maximum values are shown for pigmentation stage (D). The asterisk (non parametric analysis) and different letters (parametric statistical analysis) indicate significant differences among rivers.

The longest glass eels were captured in GRB and RSJ (Figure 22A). The RSJ and MR glass eels were 1.2 heavier than those captured in GRB and had a higher condition index (Figure 22B, C). Glass eels captured in RSJ were generally non-pigmented (pigmentation index close to 1), while pigmentation at the lateral line was present in both MR and GRB (median of pigmentation index from 2 to 4) (Figure 22D). MDS analysis indicated that total length and pigmentation status were better than mass in explaining phenotypic differences among rivers.

3.8 DISCUSSION

One of the aims of this study was to investigate whether the endocrine model underlying salinity preference suggested by Edeline (2009) for European glass eel could apply to American eel. A second goal was to test whether there were different hormonal patterns associated with the different habitat selection. While we were not able to associate different expression patterns according to salinity preference, pronounced differences in gene expression were observed among geographic sites of sampling. However, the observed patterns did not generally correspond to our working hypotheses and predictions. Thus, the present results indicate no differences in the expression of genes coding for the thyroxin/triiodothyronine axis or for the GH/GH-R/IGF-1/IGF-1R axis according to salinity preference. These results coupled with those demonstrating the absence of differences related to energy storage status according to salinity preference (Gaillard et al. 2015) confirm that the “hypothetical endocrine mechanism for the control of glass eel migratory plasticity” suggested for European glass eel (Edeline et al. 2009) cannot apply to American glass eel.

However, different hormonal gene expression patterns were detected among glass eels captured in the three locations, with GRB and RSJ associated with the freshwater ecotype and MR associated with the brackish/saltwater ecotype as determined by Côté et al. (2014) and Pavey et al. (2015). RSJ glass eels were characterized by the highest expression of prolactin, DIO-2, and THR α_b , a hormonal pattern expected for a freshwater ecotype. These glass eels were also the least pigmented, indicating that they were the least developed.

The thyroid axis has been shown to be involved in fish metamorphosis (Power et al. 2001; Sudo et al. 2014). Specifically, iodothyronine deiodinases have been shown to control developmental phases in teleost fishes (e.g., Jarque and Piña 2014). Kawakami et al. (2013) showed higher expressions of thyroid hormone α_a and α_b receptors during the larval stage of the Japanese eel with a decrease at the onset of metamorphosis

followed by a peak at later stages of metamorphosis. In the Japanese conger eel, *Conger myriaster*, the expression of these two thyroid hormone receptors peaked at metamorphosis and the expression of the isoform α_a was higher than that of α_b . Moreover, triiodothyronine in Japanese eel was primarily triggered during metamorphosis while thyroxin peaked at the end of the metamorphosis and at the glass eel stage (Yamano et al. 2007).

Since the development of glass eels captured in RSJ seemed to be less advanced than in the other two rivers, the higher expressions of thyroid activity indicators could be related to developmental processes instead of the expression of a specific ecotype. In American eel, hormonal concentration at the yellow eel stage indicated that those that were colonizing rivers had the highest thyroxin concentrations (Castonguay et al. 1990). Considering that both Edeline et al. (2004) and Castonguay et al. (1990) showed only slight differences in triiodothyronine concentrations between freshwater and brackish/marine glass and yellow eels, this may argue for a role related to metamorphosis to explain high expression levels of genes related to the thyroid axis in RSJ.

DIO-2 expression was also higher in GRB compared to MR glass eels. Even though there was no specific difference in the expression of TSH- β , MDS analysis discriminated GRB glass eels through their expression of this hypothalamic factor, which stimulates thyroxin production. Thus, a link between activation of the thyroidal axis and the freshwater ecotype cannot be dismissed. The results of the MDS analysis showed a clear correlation between the PROL and DIO-2 expression patterns, again arguing for a direct link between activation of the thyroid axis and the probability of adopting the freshwater ecotype. Considering that RSJ and GRB have been associated with the freshwater ecotype, their higher DIO-2 expression compared to the calibrator group could be related to positive rheotaxis, a trait that was associated with the colonization of fresh water, but this remains to be clarified.

We analyzed different indicators of the thyrotropic axis, and we expected similar differences in gene expressions along the whole axis (from thyroid stimulating hormone to receptors for thyroid hormones), which was not the case. The different portions of this axis are regulated by different mechanisms (for a review see Orozco and Valverde-R 2005), and it could be relevant trying to find at which level of regulation differences between ecotypes occur. Indeed, Sudo et al. (2014) found increased thyroid hormone levels without an increase in the expression of TSH- β during Japanese eel metamorphosis (Sudo et al. 2014). Body concentration measurements of circulating thyroid hormones would have provided suitable information. Unfortunately our attempts to perform such measures were unsuccessful in the sense that levels were always below the detection threshold of the RIA kit used even when we worked with pools of four individuals.

Glass eels appear to be prepared for the osmotic challenge posed by the saltwater–freshwater transition: they have twice as many prolactin cells compared to leptocephali (in *A. japonica*; Arakawa et al. 1992) and they develop a multi-layered oesophageal mucosa (in *A. anguilla*; Ciccotti et al. 1993). Considering the important role of prolactin in freshwater adaptation (Sudo et al. 2013), it is not surprising to observe a higher expression level in RSJ than in MR glass eels considering that MR is associated with a brackish/saltwater ecotype. However, we expected a similarly high level of prolactin in GRB glass eels, especially since Côté et al. (2014) observed higher transcription of two genes associated with prolactin function for GRB glass eels relative to those from Nova Scotia, but this was not the case for PROL here.

Complex patterns in the somatotropic axis were observed in glass eels from the three rivers. Higher levels of GH and GH-R₁ expression were observed in the freshwater ecotype, and these glass eels were longer than those captured in MR. Expression of the IGF-1 receptor was also higher in GRB glass eels. Although not statistically different, IGF-1 expression also tended to be more elevated in these two rivers. Previous studies on American eel found different effects of origin on growth of glass and yellow eels (Boivin et al. 2015; Côté et al. 2014; 2009). For example, glass eels from the

brackish/saltwater ecotype had a higher wet mass and grew faster regardless in controlled conditions of the salinity of rearing water than did those from the freshwater ecotype (Boivin et al. 2015; Côté et al. 2009, 2015). Thus, a stimulated somatotrophic axis would have been expected in MR glass eels. On the contrary, all the indicators remained low compared to glass eels from the two other rivers. Perhaps stimulation of the somatotrophic axis occurs later in the brackish/saltwater ecotype as Pavey et al. (2015) showed enrichment in allelic frequencies of growth factor receptor binding at the yellow eel stage.

GH could regulate lipid mobilization by increasing lipid depletion from adipose tissues in fasting fish (e.g., Dai et al. 2015). Recently, Gaillard et al. (2016) detected a 25-fold higher expression of lipolysis enzymes in GRB glass eels than in MR ones. GH-R₁ mRNAs were detected in the eggs of Japanese eel, and it was suggested to be of maternal origin (Ozaki et al. 2006b). Many factors could be involved in the regulation of growth, and determining the exact role of the observed response must await more detailed studies. However, it certainly supports the presence of transcriptomic differences in the freshwater and saltwater eel ecotypes despite the fact that they belong to a single panmictic population (Côté et al. 2013).

The absence of a salinity preference effect on gene expressions may seem counterintuitive considering the abundant literature on the environmental influence on salinity preference of *A. anguilla* glass eels (Creutzberg 1961; Tosi et al. 1988); *Fundulus grandis* juveniles (Miller et al. 1983); *Oncorhynchus keta*, *O. gorbuscha*, *O. tshawytscha*, *O. nerka*, and *O. kisutch* pre-smolts (McInerney 1964; Otto and McInerney 1970); and *Leuresthes sardine* postlarvae (Reynolds and Thomson 1974). Considering that American eel is very euryhaline, salinity preferences could be seen as an index of migratory capacity similar to the smoltification transformation (Otto and McInerney 1970) or to genetic cognitive capacities as suggested in European glass eels (Podgorniak et al. 2015). However, in the absence of a significant salinity preference between rivers of capture previously observed in American glass eels (Boivin et al. 2015), this might explain the absence of a link between salinity preferences and hormonal gene expression.

Overall, the presence of very different endocrine patterns observed in glass eels captured on the Canadian east coast add to the growing volume of evidence that both phenotypic plasticity as well as spatially varying selection processes are present in this species. Gene \times environment and origin \times salinity effects can influence growth patterns and the expressions of genes representing many functional groups in American glass eels arriving on the Canadian east coast (Côté et al. 2009; 2014). Latitudinal variations in RNA/DNA ratios have been detected throughout the distribution range (Laflamme et al. 2012), and evidence of differing patterns of selection (spatially varying selection) was inferred to explain shifts in allele frequencies involved in metabolism (e.g. lipid and sugar metabolism, development of respiratory function, development of heart muscle) within the time frame of a single generation and despite the panmictic reproduction mode in American eel (Gagnaire et al. 2012; Pavey et al. 2015).

3.9 CONCLUSION

This study highlights the underlying endocrine mechanisms shaping the geographic patterns of life history traits in American glass eels reaching the coastal area as compared to a pattern based on condition differences. Our results show that the larger size of the freshwater ecotype could be explained by their GH/GH-R₁ gene expression and that high GH/GH-R₁ and high type 2-deiodinase mRNA levels could be important traits allowing this ecotype to reach remote and colder Canadian estuaries. The regulatory mechanisms of the thyroidal and somatotropic axes that could explain the different geographic hormonal patterns as well as how these differences are programmed during the glass eel stage remain to be elucidated.

3.10 ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to the many individuals who helped during field and laboratory work and for technical and scientific assistance, especially Brian Boivin, Marie-Ève Carpentier, Vanessa Cauchon, William Cayerblais, Guillaume Côté, Renée Gagné, Roberta Miller, Michèle Pelletier-Rousseau, Marion Pillet, Aurélie Dupont-Prinet, and Sonia Robert. Special thanks to Martin Castonguay (Fisheries and Oceans Canada) and Mélanie Dionne (Ministère Forêt Faune et Parcs) who contributed to glass eel collection; Yvonne Carey (Atlantic Elver Inc.), who provided glass eels from Nova Scotia free of cost; and Eric Parent (Fisheries and Oceans Canada), who helped with sequencing. This research was supported by an NSERC grant (Strategic Partnership Program STPGP 397689-10) to LB and CA as well as by the Ressources Aquatiques Québec research network (RAQ).

3.11 REFERENCES

Arakawa, E., Kaneko, T., Tsukamoto, K., Hirano, T., 1992. Immunocytochemical detection of prolactin and growth hormone cells in the pituitary during early development of the Japanese eel, *Anguilla japonica* (Endocrinology). *Zool. Sci.* 9, 1061-1066.

Birrell, L., Cramb, G., Hazon, N., 2000. Osmoregulation during the development of glass eels and elvers. *J. Fish. Biol.* 56, 1450-1459.

Boivin, B., Castonguay, M., Audet, C., Pavey, S.A., Dionne, M., Bernatchez, L., 2015. How does salinity influence habitat selection and growth in juvenile American eels *Anguilla rostrata*? *J. Fish. Biol.* 86, 765-784.

Bustin, S.A., Benes, V., Garson, J.A., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M.W., Shipley, G.L., Vandesompele, J., Wittwer, C.T., 2009. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin. Chem.* 55, 611-622.

Cairns, D.K., Shiao, J.C., Iizuka, Y., Tzeng, W.N., MacPherson, C.D., 2004. Movement patterns of American eels in an impounded watercourse, as indicated by otolith microchemistry. *N. Am. J. Fish. Manage.* 24, 452-458.

Castonguay M., Dutil J-D., Audet, C., Miller, R., 1990. Locomotor activity and concentration of thyroid hormones in migratory and sedentary juvenile American eels. *T. Am. Fish. Soc.* 119, 946-956.

Ciccotti, B.E., Macchi, E., Rossi, A., Cataldi, E., Cataudella, S. 1993. Glass eel (*Anguilla anguilla*) acclimation to freshwater and seawater: morphological changes of the digestive tract. *J. Appl. Ichthyol.* 9, 74-81.

Côté, C.L., Castonguay, M., Kalujnaia, M., Cramb, G., Bernatchez, L., 2014. In absence of local adaptation, plasticity and spatially varying selection rule: a view from genomic reaction norms in a panmictic species (*Anguilla rostrata*). *B.M.C. Genomics* 15, 403.

Côté, C.L., Castonguay, M., Verreault, G., Bernatchez, L., 2009. Differential effects of origin and salinity rearing conditions on growth of glass eels of the American eel *Anguilla rostrata*: implications for stocking programmes. *J. Fish. Biol.* 74, 1934-1948.

Côté, C.L., Pavey, S.A., Stacey, J.A., Pratt, T.C., Castonguay, M., Audet, C., Bernatchez, L., 2015. Growth, female size, and sex ratio variability in American eel of different origins in both controlled conditions and the wild: Implications for stocking programs. *Transactions of the American Fisheries Society* 144, 246-257.

Creutzberg, F., 1961. On the orientation of migrating elvers (*Anguilla vulgaris* Turt.) in a tidal area. *Neth. J. Sea Res.* 1, 257-338.

Dai, X., Zhang, W., Zhuo, Z., He, J., Yin, Z., 2015. Neuroendocrine regulation of somatic growth in fishes. *Sci. China Life Sci.* 58, 137-147.

Edeline, E., 2005. Facteurs du contrôle de la dispersion continentale chez l'anguille. Ph.D. thesis. Paul Sabatier Toulouse III 144 pp.

Edeline, E., Bardonnnet, A., Bolliet, V., Dufour, S., Elie, P., 2005a. Endocrine control of *Anguilla anguilla* glass eel dispersal: effect of thyroid hormones on locomotor activity and rheotactic behavior. *Horm. Behav.* 48, 53-63.

Edeline, E., Dufour, S., Briand, C., Fatin, D., Elie, P., 2004. Thyroid status is related to migratory behavior in *Anguilla anguilla* glass eels. *Mar. Ecol-Prog. Ser.* 282, 261-270.

Edeline, E., Dufour, S., Elie, P., 2005b. Role of glass eel salinity preference in the control of habitat selection and growth plasticity in *Anguilla anguilla*. *Mar. Ecol-Prog. Ser.* 304, 191-199.

Edeline, E., Dufour, S., Elie, P., 2009. Proximate and ultimate control of eel continental dispersal spawning migration of the European eel. In: van den Thillart, G., Dufour, S., Rankin, J.C. (Eds.), *Spawning Migration of the European Eel*. Springer Netherlands 433-461 pp.

Escobar, S., Fuentes, E.N., Poblete, E., Valdés, J.A., Safian, D., Reyes, A.E., Álvarez, M., Molina, A., 2011. Molecular cloning of IGF-1 and IGF-1 receptor and their expression pattern in the Chilean flounder (*Paralichthys adspersus*). *Comp. Biochem. Phys. B.* 159, 140-147.

Forrest, J.N., MacKay, W.C., Gallagher, B., Epstein, F.H., 1973. Plasma cortisol response to saltwater adaptation in the American eel *Anguilla rostrata*. *Am. J. Physiol.* 224, 714-717.

Gagnaire, P.-A., Normandeau, E., Côté, C., Møller Hansen, M., Bernatchez, L., 2012. The genetic consequences of spatially varying selection in the panmictic American Eel (*Anguilla rostrata*). *Genetics* 190, 725-736.

Gaillard, M., Bernatchez, L., Tremblay, R., Audet, C., 2015. Regional variation in energy storage strategies in American glass eels from Eastern Canada. *Comp. Biochem. Phys. A* 188, 87-95.

Gaillard, M., Pavey, S.A., Côté, C.L., Bernatchez, L., Audet, C., 2016. Regional variation of gene regulation associated with energy metabolism in American glass eels (*Anguilla rostrata*) *Comp. Biochem. Phys. A* 196, 30-37.

García, S., Luengo, J., Herrera, F., 2015. Data preprocessing in data mining. Springer International Publishing 320 pp.

Gomes, A.S., Alves, R.N., Rønnestad, I., Power, D.M., 2014. Orchestrating change: the thyroid hormones and GI-tract development in flatfish metamorphosis. *Gen. Comp. Endocr.* 220, 2-12.

Haro, A.J., Krueger, W.H., 1988. Pigmentation, size, and migration of elvers (*Anguilla rostrata* (Lesueur)) in a coastal Rhode Island stream. *Can. J. Zool.* 66, 2528-2533.

Jarque, S., Piña, B., 2014. Deiodinases and thyroid metabolism disruption in teleost fish. *Environ. Res.* 135, 361-375.

Jessop, B. M, Shiao, J.-C., Iizuka, Y., Tzeng, W.-N., 2002. Migratory behaviour and habitat use by American eels *Anguilla rostrata* as revealed by otolith microchemistry. *Mar. Ecol-Prog. Ser.* 233, 217-229.

Kawakami, Y., Nomura, K., Ohta, H., Tanaka, H., 2013. Characterization of thyroid hormone receptors during early development of the Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Gen. Comp. Endocr.* 194, 300-310.

Laflamme, S., Côté, C., Gagnaire, P.-A., Castonguay, M., Bernatchez, L., 2012. RNA/DNA ratios in American glass eels (*Anguilla rostrata*): evidence for latitudinal variation in physiological status and constraints to oceanic migration? *Ecol. Evo.* 2, 875-884.

Livak, K.J., Schmittgen, T.D., 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods* 25, 402-408.

MacKenzie, D.S., Jones, R.A., Miller, T.C., 2009. Thyrotropin in teleost fish. *Gen. Comp. arative Endocr.* 161, 83-89.

Manzon, L.A., 2002. The role of prolactin in fish osmoregulation: a review. *Gen. Comp. arative Endocr.* 125, 291-310.

McInerney, J.E., 1964. Salinity preference: an orientation mechanism in salmon migration. *J. Fish. Res. Board Can.* 21, 995-1018.

Miller, C.A., Fivizzani, A.J., Meier, A.H., 1983. Water temperature influences salinity selection in the Gulf killifish, *Fundulus grandis*. *Can. J. of Zool.* 61, 1265-1269.

Olsvik, P.A., Lie, K.K., Jordal, A.-E.O., Nilsen, T.O., Hordvik, I., 2005. Evaluation of potential reference genes in real-time RT-PCR studies of Atlantic salmon. *BMC Mol. Biol.* 6, 21-30.

Orozco, A., Valverde-R, C., 2005. Thyroid hormone deiodination in fish. *Thyroid* 15, 799-813.

Otto, R.G., McInerney, J.E., 1970. Development of salinity preference in pre-smolt coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *J. Fish. Res. Board Can.* 27, 793-800.

Ozaki, Y., Fukada, H., Kazeto, Y., Adachi, S., Hara, A., Yamauchi, K., 2006a. Molecular cloning and characterization of growth hormone receptor and its homologue in the Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Comp. Bioch. Physiol. B* 143, 422-431.

Ozaki Y, Fukada H, Tanaka H, Kagawa, H., Ohta, H., Adachi, S., Hara, A., Yamauchi, K., 2006b. Expression of growth hormone family and growth hormone receptor during early development in the Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Comp. Bioch. Physiol. B* 145, 27-34.

Ozaki, Y., Okumura, H., Kazeto, Y., Ikeuchi, T., Ijiri, S., Nagae, M., Adachi, S., Yamauchi, K., 2000. Developmental changes in pituitary–thyroid axis, and formation of gonads in leptocephali and glass eels of *Anguilla* spp. *Fisheries Sci.* 66, 1115-1122.

Pavey, S. A., Gaudin, J., Normandeau, E., Dionne, M., Castonguay, M., Audet, C., Bernatchez, L., 2015. RAD sequencing highlights polygenic discrimination of habitat ecotypes in the panmictic American eel. *Curr. Biol.* 12, 1666-1671

Perrot, V., Moiseeva, E.B., Gozes, Y., Chan, S. J., Ingleton, P., Funkenstein, B., 1999. Ontogeny of the insulin-like growth factor system (IGF-I, IGF-II, and IGF-1R) in gilthead seabream (*Sparus aurata*): expression and cellular localization. *Gen. Comp. Endocr.* 116, 445-460.

Podgorniak, T., Angelini, A., Blanchet, S., de Oliveira, E., Pierron, F., Daverat, F., (2015) Climbing experience in glass eels: A cognitive task or a matter of physical capacities? *Physiol. Beh.* 151, 448-455

Power, D., Llewellyn, L., Faustino, M., Nowell, M.A., Björnsson, B.T., Einarsson, I., Canario, A.V., Sweeney, G.E., 2001. Thyroid hormones in growth and development of fish. *Comp. Bioch. Physiol. C* 130, 447-459.

Reynolds, W.W., Thomson, D.A., 1974. Ontogenetic change in the response of the Gulf of California grunion, *Leuresthes sardina* (Jenkins & Evermann), to a salinity gradient. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 14, 211-216.

Sakamoto, T., McCormick, S.D., 2006. Prolactin and growth hormone in fish osmoregulation. *Gen. Comp. Endocr.* 147, 24-30.

Sasai, S., Katoh, F., Kaneko, T., Tsukamoto, K., 2007. Ontogenic change of gill chloride cells in leptocephalus and glass eel stages of the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Mar. Biol.* 150, 487-496.

Sudo, R., Okamura, A., Kuroki, M., Tsukamoto, K., 2014. Changes in the role of the thyroid axis during metamorphosis of the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *J. Exp. Zool. A* 321, 357-364.

Sudo, R., Suetake, H., Suzuki, Y., Aoyama, J., Tsukamoto, K., 2013. Profiles of mRNA expression for prolactin, growth hormone, and somatolactin in Japanese eels, *Anguilla japonica*: the effect of salinity, silvering and seasonal change. *Comp. Bioch. Physiol. A* 164, 10-16.

Tesch, F.-W., 2003. In: Thorpe, J.E. (Ed.), *The Eel*, 3rd edition Blackwell Science, Oxford.

Tosi, L., Sala, L., Sola, C., Spampanato, A., Tongiorgi, P., 1988. Experimental analysis of the thermal and salinity preferences of glass-eels, *Anguilla anguilla* (L.), before and during the upstream migration. *J. Fish. Biol.* 33, 721-733.

Vandesompele, J., De Preter, K., Pattyn, F., Poppe, B., Van Roy, N., De Paepe, A., Speleman, F., 2002. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol.* 3, research0034.

Weltzien, F.-A., Pasqualini, C., Vernier, P., Dufour, S., 2005. A quantitative real-time RT-PCR assay for European eel tyrosine hydroxylase. *Gen. Comp. Endocr.* 142, 134-142.

Wilson, J., Leitão, A., Gonçalves, A., Ferreira, C., Reis-Santos, P., Fonseca, A.-V., da Silva, J., Antunes, J., Pereira-Wilson, C., Coimbra, J., 2007. Modulation of branchial ion transport protein expression by salinity in glass eels (*Anguilla anguilla* L.). *Mar. Biol.* 151, 1633-1645.

Yamano, K., Nomura, K., Tanaka, H., 2007. Development of thyroid gland and changes in thyroid hormone levels in leptocephali of Japanese Eel (*Anguilla japonica*). *Aquaculture* 270, 499-504.

DISCUSSION GÉNÉRALE

Dans le but d'apporter de nouvelles connaissances sur les capacités d'adaptation des anguilles exploitées dans des environnements spatialement variables, d'élucider les facteurs internes qui causent les variations régionales de leurs traits d'histoire de vie et influencent leur comportement migratoire, les mécanismes physiologiques sous-jacents à la catadromie facultative chez la représentante nord américaine ont été examinés dans les trois chapitres de cette thèse.

Plus précisément, l'objectif était de mettre en lumière à l'échelle individuelle et moléculaire, les bases physiologiques, énergétiques et endocriniennes sous-jacentes aux écotypes régionaux d'eau douce et d'eau salée/saumâtre par l'étude 1) des niveaux de leur condition corporelle et de leurs réserves énergétiques, 2) des niveaux d'expression génique des transcrits d'enzymes et d'hormones impliquées dans le métabolisme énergétique et 3) des niveaux d'expression génique de gènes codants pour des hormones impliquées dans la métamorphose, la croissance et l'osmorégulation chez les jeunes stades d'*Anguilla rostrata* aux prémisses de leur croissance et de leur migration dans les régions canadiennes. Les outils écophysiologiques et moléculaires ont été un réel atout pour caractériser les divergences physiologiques entre écotypes chez une espèce à grande capacité d'acclimatation et de dispersion. Les résultats démontrent que l'anguille est un excellent modèle biologique pour démystifier les facteurs internes sous-jacents aux différentes tactiques migratrices observées au sein d'une même population.

Cette discussion générale rapporte tout d'abord les efforts de pêcheries qui ont été requis pour cette thèse. Puis, je fais état des nouvelles relations documentées entre l'indice de condition corporelle Le Cren et les statuts énergétiques des civelles sur la base des différents contenus corporels énergétiques. D'autre part, l'ensemble des contributions

des trois chapitres qui ont permis de caractériser les écotypes au recrutement est présenté, ainsi que la variabilité spatio-temporelle des phénotypes écotypiques détectée à partir d'homogénats du corps entier. Grâce aux nouvelles connaissances biologiques révélées dans cette étude doctorale, je propose deux nouveaux modèles de mécanismes moléculaires et écophysiologiques qui sous-tendent le recrutement des écotypes et je présente les différentes relations observées entre les transcrits des différents gènes étudiés. Enfin, quelques propositions des conséquences du changement global sur *A. rostrata* ainsi que des suggestions d'amélioration des mesures de conservations sont présentées. Subséquemment, des perspectives de recherches sont proposées.

RÉSULTATS DES PÊCHERIES

Étudier une espèce exploitée qui dispose d'un statut de conservation car son stock a décliné de manière considérable, pose des contraintes particulières d'échantillonnage. En effet, conformément aux tendances des indices de populations observées depuis les années 1980 au Canada, nous avons été confronté à des captures inégales, voir nulles, dans les régions administratives de la Gaspésie et du Bas-Saint-Laurent et ceci, particulièrement durant la saison estivale de l'année 2011 (Tableau 8 ; Boivin *et al.*, 2015). L'ajout d'une rivière de Nouvelle Écosse avait été planifié pour remédier à ces inégalités (East, juin 2011). Par mesure de rigueur et de concision, seule l'année 2012 a été utilisée dans les chapitres de cette thèse ayant récolté pour cette année-ci, un nombre suffisant de civelles par rivière et préférence de salinité. D'autre part, compte tenu des répliques biologiques disponibles, l'inclusion d'une troisième rivière dans nos études n'a été possible que pour le troisième chapitre. Un jeu de données de deux années aurait permis une comparaison des résultats à la fois intra-générationnelle (date d'arrivée) et intergénérationnelle (années) et intra-écotype (sites) et inter-écotype (région). Cependant, compte tenu que des analyses du contenu énergétique avaient été commencées sur des civelles de 2011 (Mersey 2011 et 2012 : lots 1 et 2 ; East 2011 : lot 2), les conclusions générales associées à la variabilité intergénérationnelle et locale observée pour la région de la Nouvelle Écosse ont été apportés en éléments de discussion.

Table 8 Nombre d'individus capturés (n) par rivière (River), année (Year) et date d'arrivée (Sampling period et Batch) (Boivin *et al.*, 2015)

Year	Sampling period	River	Batch	n
2011	4 May to 9 May	Mersey	1	1221
2011	9 June to 12 June	Mersey	2	568
2012	26 March to 28 March	Mersey	1	2126
2012	20 April to 21 April	Mersey	2	1083
2011	–	East	1	0
2011	12 June to 15 June	East	2	954
2012	–	East	1	0
2012	–	East	2	0
2011	–	Saint-Jean	1	0
2011	–	Saint-Jean	2	0
2012	16 May to 21 May	Saint-Jean	1	258
2012	28 May to 3 June	Saint-Jean	2	378
2011	29 June to 3 July	Grande-Rivière-Blanche	1	124
2011	–	Grande-Rivière-Blanche	2	0
2012	2 June to 6 June	Grande-Rivière-Blanche	1	321
2012	18 June to 21 June	Grande-Rivière-Blanche	2	1336

Les résultats des pêches de 2011 montrent à quel point la variabilité interannuelle des abondances des recrues dans le bassin versant du Saint-Laurent est élevée et dépend de la localité. L'abondance des recrues chez *A. rostrata* a été démontrée comme étant positivement corrélée aux phases positives de l'indice d'Oscillation Nord Atlantique (Côté *et al.*, 2013) et aux précipitations hivernales et a été démontrée comme étant négativement corrélée aux températures d'eau de surface (Sullivan *et al.*, 2006 ; Sullivan *et al.*, 2009). Ainsi, des phénomènes climatiques et océanographiques (ENSO, PNA, NAO) ont dû très certainement avoir des répercussions sur les pêches de l'année 2011, année El Niña (NOAA, 2016 ; Bastos *et al.*, 2013 ; Ning et Bradley, 2015 ; Shabbar et Khandekar, 1996 ; Shabbar *et al.*, 1997). L'utilisation d'indices démographiques qui tiennent compte des variations climatiques et océanographiques comme ceux développés dans Côté *et al.*, (2013) ou des niveaux d'ADN environnemental (Lacoursière-Roussel *et al.*, 2015) apparaît primordiale pour la planification des pêcheries d'*A. rostrata* et le serait d'autant plus pour les régions canadiennes du bassin versant du Saint-Laurent, environnements de moins en moins colonisés. Finalement, ces différences interannuelles des pêcheries laissent présager des conditions rigoureuses des régions les plus au nord de l'aire de distribution d'*A. rostrata* et la présence de performances physiologiques particulières chez les civelles qui les atteignent.

INDICE DE CONDITION CORPORELLE ET ÉTAT NUTRITIONNEL DES CIVELLES AU RECRUTEMENT

Précédemment, les tactiques migratrices des anguilles avaient été identifiées comme des « écophénotypes », c.-à-d. phénotypes adaptés à un environnement ou habitat donné non attribuables à des facteurs génétiques (p. ex. Haynes, 1992). L'expression des tactiques migratrices avait été documentée comme dépendante du statut énergétique individuel des civelles, hypothèse qui s'appuyait sur des calculs des niveaux d'indice de condition corporelle individuel qui influenceraient significativement l'activité locomotrice et les préférences de salinité des civelles (c.-à-d. Edeline *et al.*, 2006). Cependant, nos résultats certifient que quel que soit l'écotype donné, les préférences de salinité ne sont corrélées ni 1) aux contenus énergétiques ou à la condition corporelle (Article 1), et ni 2) aux niveaux d'expression génique pour des gènes codants pour des hormones associées à l'osmorégulation, la métamorphose ou la croissance (Article 3). De plus, l'examen des relations entre l'indice de condition et les niveaux des réserves énergétiques (Article 1) a permis de vérifier s'ils peuvent être utilisés comme « proxy » comme des études l'avaient suggéré sans que cette relation n'ait été vérifiée (p. ex. *A. anguilla* : Edeline *et al.*, 2009 ; Imbert *et al.*, 2008). Nous démontrons que l'indice de condition est une mesure polyvalente des contenus énergétiques. En effet, il est significativement proxy à 51 % du contenu en triacylglycérols (TAG, lipides de réserve), mais l'est aussi à - 56 % du contenu en stéroïdes et cires estérifiés (SE-WE, lipides de structure) et à - 33 % du contenu en glycogène total. Ainsi, un individu qui a un indice de condition élevé peut être caractérisé soit par des niveaux de glycogène et SE-WE plus faibles ou soit par des niveaux de TAG plus élevés. Ainsi, l'utilisation de l'indice de condition corporelle comme un indice d'embonpoint (p. ex. Bureau du Colombier *et al.*, 2007 ; Sullivan *et al.*, 2009) est discutable, considérant sa variabilité interindividuelle chez des individus de même masse humide, de même contenu en lipides totaux et d'aptitude différentielle à mobiliser efficacement les réserves énergétiques (Article 1 et 2). Par contre, il peut être un témoin de la variabilité spatio-temporelle intra- et inter-sites durant la montaison des civelles (Sullivan *et al.*, 2009).

Aussi, nos résultats montrent que l'indice de condition corporelle n'est pas une mesure adéquate du contenu en lipides totaux (Article 1). Le contenu en lipides totaux est représentatif des conditions nutritionnelles chez les poissons qui en général les stockent lorsqu'ils s'alimentent (Sheridan, 1988). Chez les civelles, ils représentent soit les conditions nutritionnelles de la larve leptocéphale (réserves endogènes) soit de la civelle (apports exogènes) (Kawakami *et al.*, 1999). Ces derniers auteurs démontrent que chez les civelles japonaises, le contenu lipidique de la cavité péritonéale et la masse corporelle diminuent avec la date d'arrivée sur une période d'arrivée de 5 mois lorsque les demandes énergétiques augmentent. Dans notre étude, le contenu en lipides totaux ainsi que la masse corporelle étaient invariables dans le temps et dans l'espace (Article 1) suggérant que les conditions nutritionnelles et les coûts et dépenses énergétiques n'interfèrent pas avec le recrutement des civelles. Au vu de ces résultats et des niveaux d'expression génique indifférenciés des gènes codants pour des hormones impliquées dans la régulation de l'appétit (Article 2), nous suggérons que les civelles à leur arrivée aient subsisté sur les réserves endogènes issues de la leptocéphale. De plus, les anguilles cessent de s'alimenter à de faibles températures (p. ex. Jonhston et Dunn, 1987) et le taux de digestion est lent à des températures en-deçà de 12°C (p. ex. Kawakami *et al.*, 1999). Les concentrations en lipides totaux étant toujours similaires, elles semblent être compensées par des variations en pourcentage des différentes classes de lipides, par les plus (TAG, PL, SE-WE) et les moins discriminantes (ST, ALC, KET, AMPL, résultats non présentés) (Article 1). Finalement, des mesures de la masse sèche dans le calcul de l'indice de condition n'auraient probablement pas changé les résultats car il a déjà été démontré qu'ils variaient similairement à ceux de la masse humide et que le niveau en eau chez les civelles en montaison était stable (*A. japonica* Kawakami *et al.*, 1999 ; *A. rostrata* : Degani, 1986).

CARACTÉRISATION DES ÉCOTYPES AU RECRUTEMENT

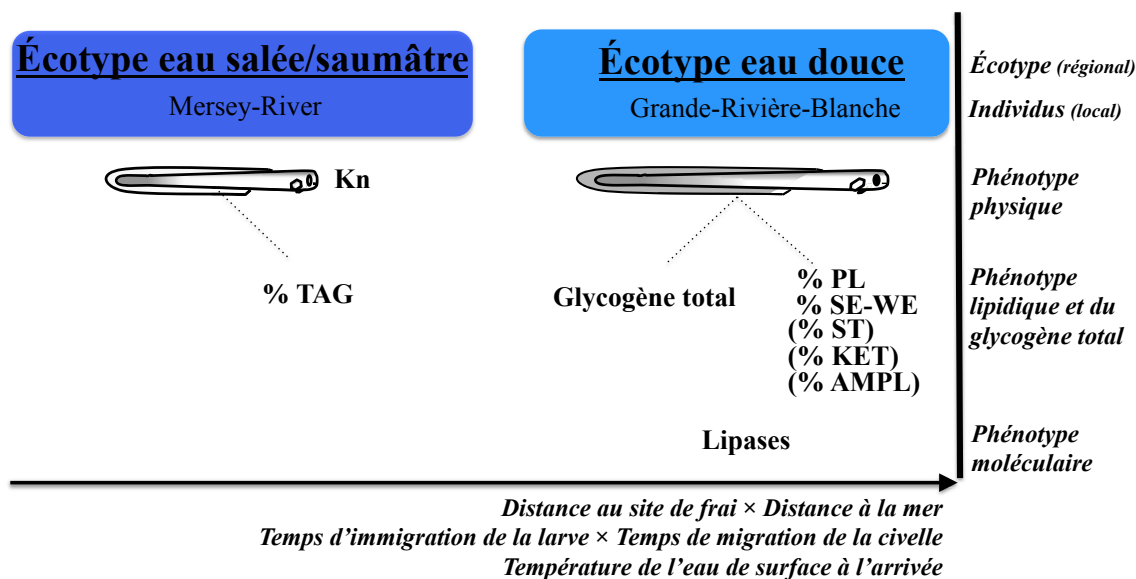


Figure 23 Schéma comparatif et récapitulatif des différents phénotypes liés au métabolisme énergétique observés entre écotypes à l'échelle individuelle et moléculaire (Articles 1 et 2) Les écotypes sont présentés selon la localité de recrutement dont les principales caractéristiques écophysiologiques associées à celle-ci sont présentées sur l'axe horizontal avec « x » symbolisant « ou ».

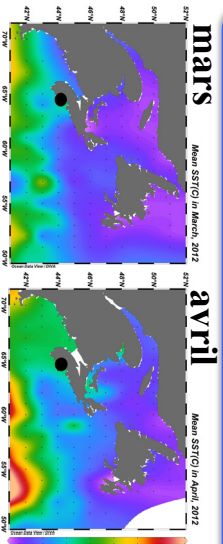
Un des résultats originaux de cette thèse est de démontrer que des divergences phénotypiques au recrutement s'observent selon la localité de capture des civelles, résultats confirmés par d'autres travaux issus du même projet de recherche stratégique (subvention de groupe du Conseil national en recherche et génie du Canada) et qui démontrent l'existence d'un contrôle à la fois génétique et environnemental des formes migratrices sous l'action de la sélection spatialement variable (Boivin *et al.*, 2015 ; Côté *et al.*, 2009 ; Côté *et al.*, 2014 ; Côté *et al.*, 2015 ; Gagnaire *et al.*, 2012 ; Laflamme *et al.*, 2012 ; Pavey *et al.*, 2015). Ainsi, les « écophénotypes » sont en fait des « écotypes ».

Ces écotypes sont « latitude, sexe et salinité dépendants » et se différencient par des variations dans les fréquences alléliques pour des groupes de gènes impliqués dans des traits fonctionnels particuliers (Pavey *et al.*, 2015). Cette même étude d'association pangénomique dévoile la répartition régionale de ces écotypes : en général, la région du golfe du Saint-Laurent est associée à l'écotype eau douce (p. ex. GRB, RSJ) et celle de la Nouvelle Écosse (p. ex. MR), à l'écotype salé/saumâtre. De ce fait, les civelles de GRB et RSJ feront référence par la suite à l'écotype eau douce et celles de MR à l'écotype eau salée/saumâtre.

Nos résultats suggèrent qu'une aptitude métabolique différentielle est l'une des plus importantes différenciations post-larvaires de ces écotypes. En effet, le métabolisme des lipides de réserve explique 80 % des dissimilarités observées entre les écotypes régionaux à l'échelle moléculaire (Article 2, Figure 23), 40 % des dissimilarités au niveau individuel (Article 1, Figure 23) et lorsque l'ensemble des phénotypes moléculaires sont analysés (données personnelles), il explique 60 % des dissimilarités entre écotypes (analyse SIMPER : Cum. % [BSAL et TAG] : 59,53 ; Σ Diss % [GRB et MR] : 47,99). Nos résultats appuient les récentes études qui témoignent de l'action de la sélection spatialement variable au stade civelle sur des gènes entre autres reliés au métabolisme lipidique et glucidique (Côté *et al.*, 2014 ; Gagnaire *et al.*, 2012), ainsi que celles qui confirment l'existence d'une divergence latitudinale des aptitudes physiologiques et métaboliques entre civelles (Koehn et Williams, 1978 ; Laflamme *et al.*, 2012). Grâce aux outils physiologiques et moléculaires, nos résultats permettent la caractérisation des divergences d'aptitudes physiologiques entre écotype des régions canadiennes. En effet, non seulement l'écotype d'eau douce se caractérise par une meilleure aptitude à mobiliser efficacement ses réserves en triacylglycérols mais aussi par une meilleure aptitude à l'osmorégulation, la croissance et la migration étant donné que la plupart des gènes codant étudiés sont surexprimés chez cet écotype (Article 3) comme le résume la Figure 24.

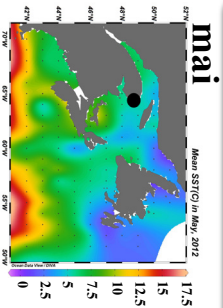
Écotype eau salée/saumâtre

Mersey-River
(33‰)

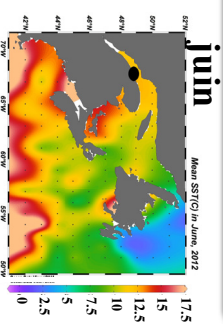


Écotype eau douce

Rivière-Saint-Jean
(27‰)



Grande-Rivière-Blanche
(25‰)



Écotype

Variabilité
intra-écotype

Températures
de surface (°C)

Phénotype
physique

Phénotype
moléculaire



Distance de migration

Kn

Prolactine
DIO-2
THR α_b
GH
GH-R₁

GH

IGF-1R

Distance au site de frai × Distance à la mer

Temps d'immigration de la larve × Temps de migration de la civelle

Augmentation de la température à l'arrivée

Figure 24 Schéma comparatif et récapitulatif des différents phénotypes physiques et moléculaires reliés à la croissance, métamorphose et osmorégulation entre écotypes et intra-écotype pour l'écotype d'eau douce (Article 3). Les écotypes sont positionnés selon la localité de recrutement étudiée et les variables écophysiologicals associées à celle-ci. La salinité documentée (MPO) et la température mensuelle moyenne des eaux de surface enregistrées à la date de recrutement (données : International Comprehensive Ocean-Atmosphere Data Set ; carte : Ocean Data View Software) sont aussi données.

L'écotype d'eau salée/saumâtre se caractérise par (Figure 22 et 24) :

- une petite taille et un stade de développement à l'arrivée de 2 à 4
- une meilleure condition corporelle (+ 16,6 %)
- une moins grande propension à mobiliser efficacement les réserves en triacylglycérols et en conséquence, un contenu élevé en triacylglycérols (+ 73,8 %)
- un métabolisme basé sur la mobilisation du glycogène et en conséquence, un contenu en glycogène total diminué
- de faibles niveaux d'expression génique pour l'ensemble des gènes étudiés.

L'écotype d'eau douce se distingue par (Figure 22 et 24) :

- une plus grande taille (+ 4,8 mm) et un stade de pigmentation variable (1 à 4) selon la distance à la mer
- une surexpression des lipases et en conséquence un contenu moins élevé en triacylglycérols
- une conservation du glycogène total (contenu plus élevé à 67,7 %) et l'enzyme qui le catabolise n'est pas surexprimé
- un contenu élevé des autres classes de lipides (+ 43 % en PL, + 42 % en SE-WE, + 33 % en ST, $p < 0,0001$) parmi lesquelles cires et stérols pourraient être impliqués dans la stimulation de la bile (Tocher et Sargent, 1984).
- une surexpression des hormones impliquées dans l'osmorégulation, la croissance ou la métamorphose.

VARIABILITÉ SPATIO-TEMPORELLE DES PHÉNOTYPES ÉCOTYPIQUES

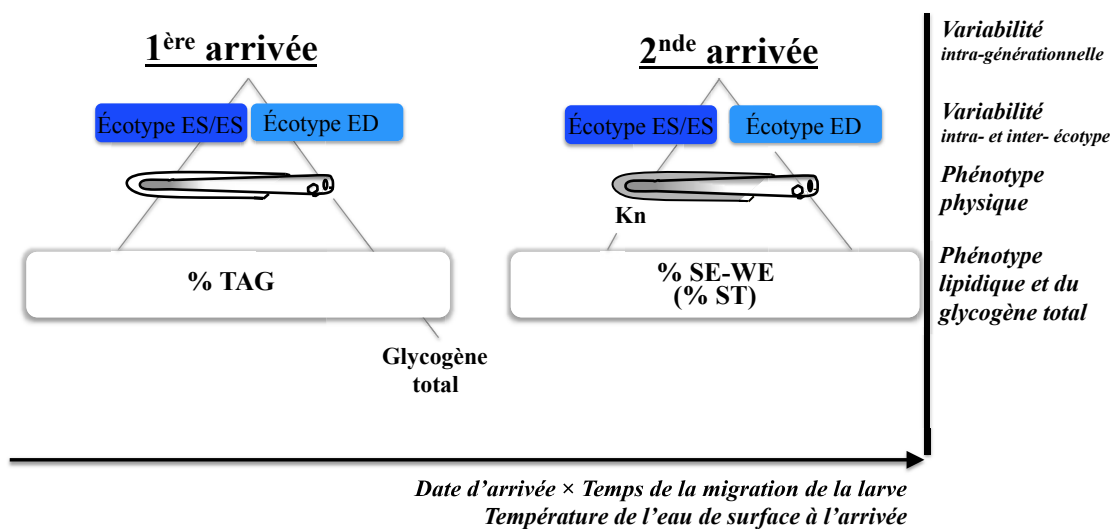


Figure 25 Schéma comparatif et récapitulatif de la variabilité spatio-temporelle intra-générationnelle et intra et inter-écotype des phénotypes physiques, lipidiques et du glycogène total observés (Article 1)

Nos résultats témoignent d'une variabilité intra-générationnelle intra et inter-écotype des phénotypes reliés au métabolisme énergétique (Figure 25). En effet, ils montrent que quelque soit l'écotype, les premières civelles arrivées se caractérisent par des réserves plus élevées en lipides de réserve (+ 17 %). Spécifiquement, l'écotype eau douce est aussi caractérisé par un contenu plus élevé en glycogène total (+ 20,5 %, Article 1). Quant à celles qui arrivent plus tard, nos résultats montrent que les civelles ont un stade de pigmentation plus avancé (3-4) et un contenu plus élevé en lipides de structure (+ 24,2 % en SE-WE, + 7,9 % en ST [$p < 0,05$]) quel que soit l'écotype auquel elles appartiennent. Enfin, une meilleure condition corporelle caractérise spécifiquement les civelles tardives de l'écotype eau salée-saumâtre (+ 8 %, Article 1). Quant à l'activité transcriptionnelle des civelles, elle ne variait pas avec les dates de migration (Articles 2 et 3) possiblement parce qu'elle est sous contrôle génétique et apparaît à des moments précis du développement ontogénique des jeunes stades comme démontré chez les leptocéphales (Bernatchez *et al.*, 2011).

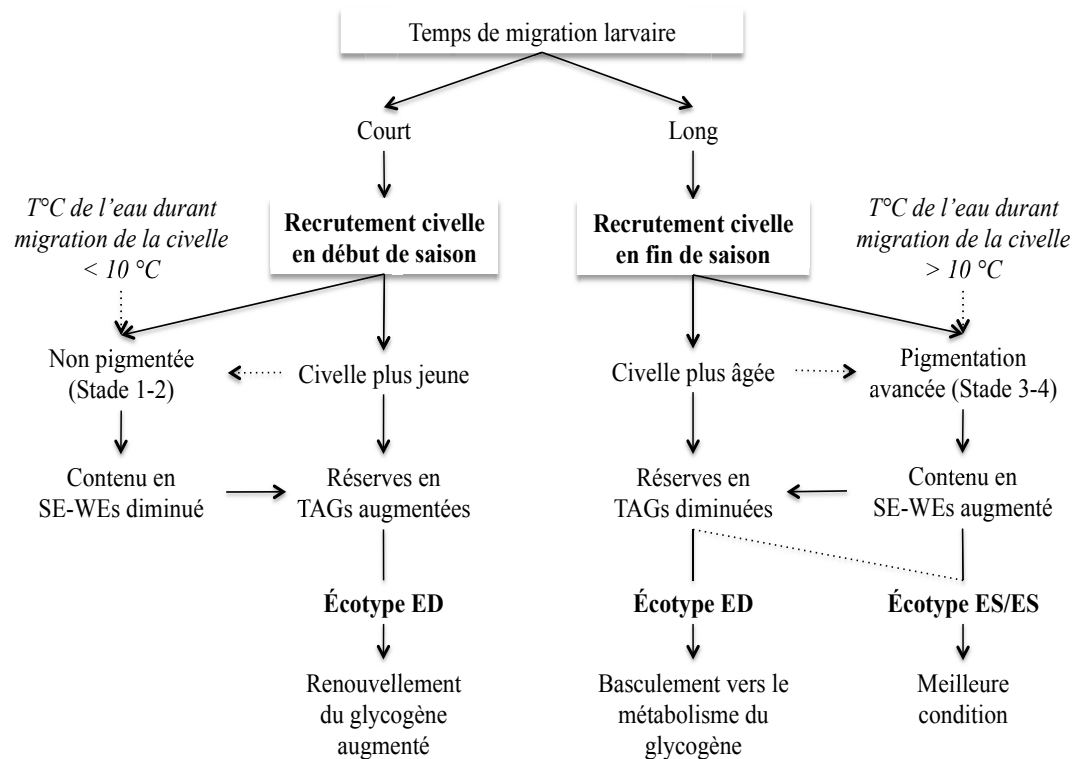


Figure 26 **Proposition des conséquences écophysiologicals d'un recrutement précoce et tardif (flèches pleines, mécanismes observés vs flèches pointillées, mécanismes suggérés)**

De ce fait, une régulation post-transcriptionnelle pourrait expliquer les différences qui s'observent à l'échelle moléculaire de celles qui s'observent à l'échelle individuelle (Aubin-Hort et Renn, 2009). Au vu de ces résultats, je propose un schéma synthétisant les conséquences écophysiologicals d'un recrutement en début et en fin de saison (Figure 26). Considérant que les dates de migration s'expliquent par des durées du stade de la leptocéphale et des âges différents de la civelle, et que ni le temps de métamorphose et ni le temps de la migration de la civelle n'entrent en considération (Kawakami *et al.*, 1999), les différences en contenu lipidique observées entre les dates d'arrivées peuvent être suggérées comme étant dues à 1) des différences dans la qualité de la productivité océanique et, 2) des développements différentiels, durant la migration transocéanique de la leptocéphale. En effet, les besoins nutritionnels de la leptocéphale augmentent avec la croissance larvaire

(Hsu *et al.*, 2015) et ses nombreuses sources alimentaires dépendent de la variabilité spatiale de la composition de la matière organique particulaire et de la productivité océanique (Feunteun *et al.*, 2015 ; Miller *et al.*, 2013 ; Miyazaki *et al.*, 2011). D'autre part, les différences dans les caractéristiques membranaires pourraient refléter des adaptations physiologiques des premiers stades dues à des conditions de température d'eau de surface, et dans une moindre mesure, de salinités différentielles entre les premières et les arrivées tardives (Briand *et al.*, 2005 ; Johnston et Dunn, 1987). En effet, chez les poissons, la température de l'eau affecte le catabolisme des lipides et du glycogène, la production d'ATP, les propriétés membranaires, génère des ajustements métaboliques dépendamment du tissu, et ces ajustements sont spécifiques à l'espèce étudiée (Johnston et Dunn, 1987). Par exemple, les stérols augmentent la rigidité et la perméabilité membranaire chez la truite, *O. mykiss*, et le tilapia, *O. niloticus* (p. ex. Robertson et Hazel, 1999), et les cires, la flottabilité et l'isolation thermique chez les organismes marins (p. ex. Nevenzel, 1970). Chez les anguilles, certains auteurs ont démontré que le développement des civelles pouvait être influencé par la température (Briand *et al.*, 2005 ; Gagnaire *et al.*, 2012 ; Kawakami *et al.*, 1999), que la pigmentation progressait de 1-2 à 3-4 (échelle de Haro et Kreuger, 1988) dès que l'eau estuarienne atteignait 10-12°C et qu'un niveau de pigmentation 3-4 était inhérent à la colonisation de la rivière après une entrée en estuaire au stade 1-2 (Sullivan *et al.*, 2009). De ce fait, les civelles tardives arriveraient avec un niveau de développement anticipé à la colonisation en rivière. Enfin, des différences de temps de développement larvaire n'ayant pas affecté les niveaux de glycogène total de l'écotype salé/saumâtre, les niveaux plus faibles chez les civelles tardives de l'écotype eau douce pourraient signifier que ces individus aient basculé vers les voies glycolytiques, leur niveau en TAG étant particulièrement faible à leur arrivée, soit < 8 % (Article 1). Enfin, le facteur de condition de l'écotype eau salée/saumâtre augmente avec la date de recrutement. Considérant la grande variabilité de cet indice, d'autres mécanismes qui n'ont pas été examinés dans cette étude pourraient expliquer cette variabilité, tel que l'ostéogénèse et le niveau du contenu en ADN comme certains le suggèrent (Kawakami *et al.*, 1999).

Nos résultats témoignent aussi d'une variabilité locale intra-écotype des phénotypes moléculaires qui varie avec la distance à la mer (Article 3, Figure 24). Cette variabilité spatiale peut suggérer des aptitudes différentielles interindividuelles intra-écotype et des mécanismes épigénétiques contrôlant l'activation de la transcription pour certains gènes sous l'action de la sélection spatialement variable. Quelle que soit la distance de migration, les civelles de l'écotype eau douce sont de même taille et détiennent des aptitudes similaires à la croissance somatique et ou à la stimulation du métabolisme lipidique compte tenu de leurs niveaux élevés des transcrits de GH (Jalabert et Fostier, 2010 ; Dai *et al.*, 2015). Étant donné que l'écotype d'eau douce est caractérisé par un taux de croissance faible (Boivin *et al.*, 2015 ; Côté *et al.*, 2014 ; Côté *et al.*, 2015) et que GH peut être surexprimée lorsque les conditions sont astreignantes (Jalabert et Fostier, 2010), la capacité de jeûner et de moduler la croissance doit être partie prenante des aptitudes manifestes à la migration estuarienne de longue distance. Par contre, celles qui ont parcouru 330 km depuis le détroit de Cabot (RSJ) ont des niveaux élevés d'expression génique hypophysaire et thyroïdienne qui ont été interprétés comme étant reliés à leur faible niveau de pigmentation. Ceci peut témoigner : 1) de températures froides rencontrées au cours de la migration dans le Golfe du Saint-Laurent (Briand *et al.*, 2005 ; Dutil *et al.*, 2009), 2) d'un développement post-larvaire long et ou ralenti et, 3) de changements physiologiques à la fois adaptés à l'osmorégulation en eau saumâtre et en eau douce. Comparativement, celles capturées en estuaire maritime (GRB) qui ont migré plus de 1 000 km, avaient un niveau de pigmentation qui a été associé au début de la phase de la colonisation des rivières chez les civelles (Sullivan *et al.*, 2009). Aussi, les civelles de GRB auraient une meilleure aptitude à la croissance compensatoire après un long jeûne étant caractérisées par des niveaux élevés en IGF-1R (Jalabert et Fostier, 2010). De plus, considérant que les civelles de GRB sont plus grandes de 4,8 mm, que le taux de développement des civelles a été évalué à 0,21 mm/jour (Wang et Tzeng, 2000) et qu'elles ont parcouru 1 000 km en 64 jours (Dutil *et al.*, 2009), il est fort probable que la traversée du golfe ait ralenti leur vitesse de croissance à 0,08 mm/jour.

Ainsi, je suggère que les capacités 1) à la croissance lente, 2) à ralentir ou à accélérer la vitesse de croissance, 3) à stimuler l'absorption des métabolites et la prolifération des cellules somatiques nécessaire à la croissance musculaire soient indispensables à la migration estuarienne post-larvaire de longue distance, et que ces capacités se doivent d'être sous le contrôle de mécanismes de régulation génétique et non-génétique. Enfin, des données non publiées des contenus énergétiques chez des civelles capturées à MR et ER en 2011 aux deux premières arrivées témoignent d'une variabilité intergénérationnelle, locale et intra-écotype des phénotypes physiques, lipidiques et du glycogène total lorsqu'ils sont comparés à ceux présentés dans l'Article 1. Seule la taille au recrutement semble similaire d'une année à l'autre pour un site donné (MR 2011 vs MR 2012 : 60,42 vs 60,69 mm). Nous suggérons qu'une grande taille au stade civelle (> 65 mm) et un long développement larvaire seraient des éléments clés de la colonisation des régions les plus au nord de l'aire de répartition d'*A. rostrata*.

MÉCANISMES PHYSIOLOGIQUES ET MOLÉCULAIRES SOUS-JACENTS AU RECRUTEMENT DES ÉCOTYPES

À la lumière des nouvelles caractéristiques physiologiques et moléculaires des écotypes chez les anguilles au stade de recrutement, je propose un modèle des mécanismes physiologiques et écophysiologiques sous-jacents au recrutement des écotypes d'une part, considérant les conclusions élaborées pour les phénotypes moléculaires observés (Figure 27) et d'autres part, considérant celles pour les phénotypes des différents constituants corporels totaux étudiés (Figure 28). Je propose que l'écotype eau salée/saumâtre soit la forme écotypique qui serait dépendante des indices de l'environnement considérant la vaste distribution de l'écotype eau salée/saumâtre sur l'ensemble de l'aire de répartition des anguilles, le faible nombre de marqueurs fixés chez cet écotype et leur capacité de survie durant la phase de croissance dans les régions canadiennes. De plus, bien que les écotypes ne soient pas caractérisés par leur préférence de salinité, de subtiles différences entre les préférences s'observent seulement chez l'écotype d'eau salée/saumâtre (Article 1), ce qui pourrait indiquer un décalage entre l'ajustement développemental et la perception des indices environnementaux. Par exemple, parmi les civelles exprimant une préférence pour l'eau douce, certains avaient des niveaux en glycogène total plus élevés (+ 68 %) et d'autres étaient de plus grande taille (\neq 3,8 cm), deux des caractéristiques identifiées comme appartenant à l'écotype eau douce. Les différences génétiques populationnelles étant subtiles chez les anguilles panmictiques, ceci pourrait confirmer la plus forte hétérozygotie observée chez cet écotype (Pavey *et al.*, 2015). Cependant, je propose que les jeunes stades de l'écotype eau salée/saumâtre aient de plus faibles aptitudes à ajuster leur physiologie à de forts coûts et contraintes développementales imposées par les rudes habitats nordiques. En effet, l'écotype eau salée/saumâtre détient de plus faibles niveaux de transcription pour la majorité des gènes étudiés. Ayant une plus faible aptitude à mobiliser les ressources énergétiques les plus calorifiques et étant limité par une petite taille et un embonpoint précoce, je suggère que la résidence dans les habitats salés/saumâtres augmente la valeur sélective de l'écotype eau salée/saumâtre. Je suggère aussi que cet écotype

différerait son entrée en rivière, que son comportement migratoire dépendrait des conditions environnementales qui se doivent d'être bien ajustées à leurs aptitudes physiologiques.

Quant à l'écotype eau douce, considérant leur plus grand nombre de marqueurs fixés et leur répartition unique dans les environnements nordiques, je propose que leur bagage génétique et épigénétique leur confère les aptitudes nécessaires pour faire face à de forts coûts et contraintes développementales associés aux environnements d'eau douce nordiques. Cet écotype aurait l'aptitude d'orienter son métabolisme vers les voies lipolytiques pour soutenir les coûts énergétiques associés aux environnements sévères *via* l'oxydation des acides gras, la gluconéogenèse, et dans des tissus spécialisés, *via* la glycogénolyse et la cétogenèse. Je propose que la surexpression des hormones hypophysaires et thyroïdiennes favorise leur développement post-métamorphe et les aptitudes locomotrices et osmorégulatrice nécessaires à la migration de longue distance dans des environnements estuariens. Je propose que la surexpression de l'axe somatotrope stimule leur accroissement en taille, leur croissance lente et leur confère l'habilité à la croissance compensatoire pour 1) supporter de longues périodes de jeûne durant la migration post-larvaire et 2) alterner durant leur phase de croissance des périodes de jeûne et des périodes de déplacements exploratoires de recherche alimentaire à des stades avancés pour faire face à la plus faible productivité des milieux d'eau douce, et aux périodes d'hivernation en l'absence de production de protéines antigél plasmatiques (Tomie *et al.*, 2015 ;Westerberg et Sjöberg, 2015). De plus, l'axe somatotrope doit aussi favoriser les conversions osmorégulatrice en eau saumâtre. De plus grande taille, les habitats d'eau douce leur permettraient d'échapper davantage aux prédateurs qui sont généralement de plus petite taille que ceux que l'on retrouve dans les habitats côtiers (p. ex. Larsson *et al.*, 1990). De ce fait, leur croissance dans les milieux froids, nordiques, d'eau douce et de faible compétitivité augmenterait leur valeur sélective. Finalement, je propose que les aptitudes physiologiques développées chez les jeunes stades soient déterminantes pour la maturation sexuelle des stades avancés, les écotypes étant sexe dépendant.

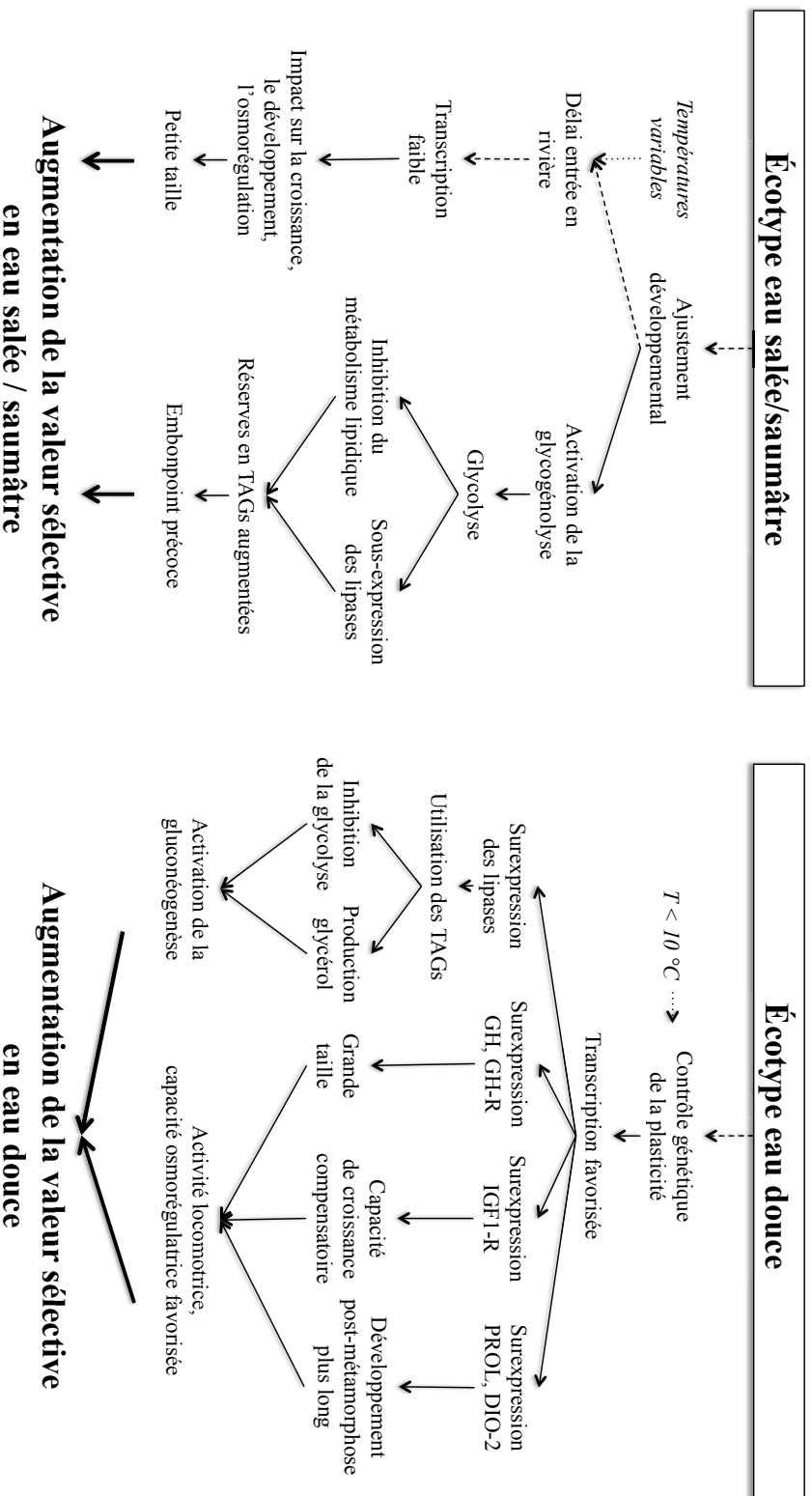


Figure 27 Proposition des mécanismes éco-physiologiques et moléculaires sous-jacents au recrutement des écotypes eau salée/saumâtre et d'eau douce

Les résultats des nos études d'approche par gènes candidats (Article 2 et 3) ont permis l'exploration des corrélations entre les niveaux d'expression de tous les gènes étudiés (Figure 28). Des relations positives intéressantes s'y dégagent. En effet, il avait auparavant été suggéré que de fortes concentrations d'hormones thyroïdiennes inhiberaient la production ou le relargage de l'hormone de croissance or ces suggestions ne sont pas vérifiées par les présents résultats au niveau transcriptionnel. Seul une corrélation positive moyenne ($> 0,5$) s'observe entre les transcripts des déiodinases et ceux de l'hormone de croissance et entre les récepteurs thyroïdiens et le récepteur du facteur de croissance insulinique. Aussi, aucune corrélation ne s'observe entre les transcripts de la prolactine et de la thyroïdostimuline qui semblent être régulés par des axes non examinés dans cette étude. De ce fait, les déiodinases et les récepteurs thyroïdiens semblent détenir un rôle non négligeable au niveau transcriptionnel dans l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien. Les corrélations les plus élevées s'observent entre les lipases, l'hormone de la faim et la GPase suggérant l'importance des voies lipolytiques dans les mécanismes de régulation des voies métaboliques énergétiques, de l'appétit et de l'axe somatotrope. Le récepteur de la leptine semble indépendant des mécanismes étudiés, tel que suggéré dans l'Article 2. D'autre part, les résultats présagent un rôle non négligeable de la régulation de l'axe somatotrope *via* ses récepteurs qui font aussi le pont avec les voies métaboliques. En conclusion, la régulation de l'appétit et la glycogénolyse semblent dépendre des voies lipolytiques pour lesquelles les lipases apparaissent détenir des rôles distincts sur les récepteurs somatotropes eux-mêmes interconnectés distinctement et modérément à l'axe hypophyso-thyroïdien.

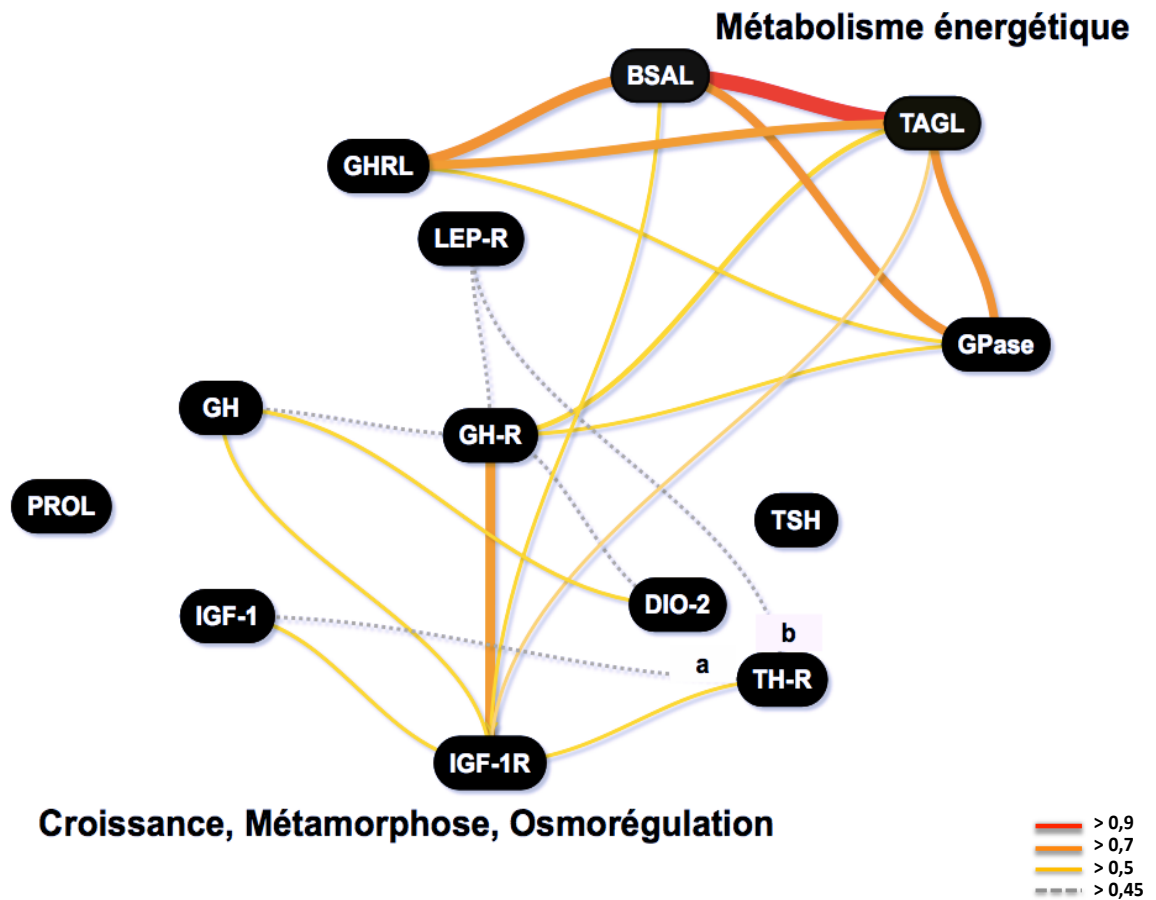


Figure 28 Schéma représentant les différentes corrélations de Spearman calculées entre les niveaux d'expression génique pour l'ensemble des gènes étudiés, les gènes candidats sont positionnés selon la (les) fonction(s) qu'ils régulent et interconnectés selon le degré de la corrélation qu'ils partagent

Quant aux mécanismes écophysiologiques qui sous-tendent le recrutement des écotypes (Figure 29), je suggère que l'écotype eau salée/saumâtre du fait de sa faible aptitude à mobiliser les TAGs et de sa petite taille, ait des capacités métaboliques et locomotrices diminuées et non adaptées à l'utilisation des courants de marée estuariens et les migrations de longue distance en eau douce. Cependant, la stratégie d'utilisation des voies glycolytiques chez cet écotype doit être mieux ajustée aux zones côtières et estuariennes de l'hémisphère nord, milieux hautement productifs et où la compétition est élevée. Les dépenses énergétiques associées à l'échappement aux prédateurs et aux interactions intra- et interspécifiques dans ces milieux favoriseraient la reprise alimentaire d'autant plus qu'un développement ontogénique dans les milieux saumâtres chez les civelles accélère leur taux de croissance (Côté *et al.*, 2009), ce qui pourrait expliquer leur recrutement en eau salée/saumâtre. Quant à l'écotype eau douce, je suggère que leur long et lent développement, ainsi que leur aptitude à orienter leur métabolisme vers la mobilisation des lipides de réserves est une stratégie qui leur confère un ensemble d'avantages pour 1) la survie et la migration en estuaire de la civelle et 2) l'initiation de la migration en eau douce des anguillettes. Ces avantages seraient 1) l'augmentation de la capacité métabolique grâce à l'oxydation des TAGs et la disponibilité d'autres sources énergétiques pour des tissus spécialisés (c.-à-d. les cétones et le glycogène), 2) une bonne tolérance aux conditions hypoxiques estuariennes grâce à leur contenu accru en glycogène total (p. ex. *A. anguilla* : Van Waarde *et al.*, 1983 ; Willmer *et al.*, 2005), 3) une meilleure tolérance aux polluants grâce à leur niveau élevé en stéroïdes comme suggéré récemment chez les anguilles atlantiques (Laporte *et al.*, 2016), 4) une stimulation supplémentaire de la bile et des lipases grâce à leur plus fort contenu en cires. Je suggère aussi que les faibles températures rencontrées durant la traversée du golfe du Saint-Laurent limiteraient leurs dépenses énergétiques (p. ex. Johnston et Dunn, 1987), ralentiraient leur croissance, favoriseraient le jeûne et soutiendraient la longue migration jusque dans l'estuaire maritime du Saint-Laurent, l'un des plus grands fleuves du Canada.

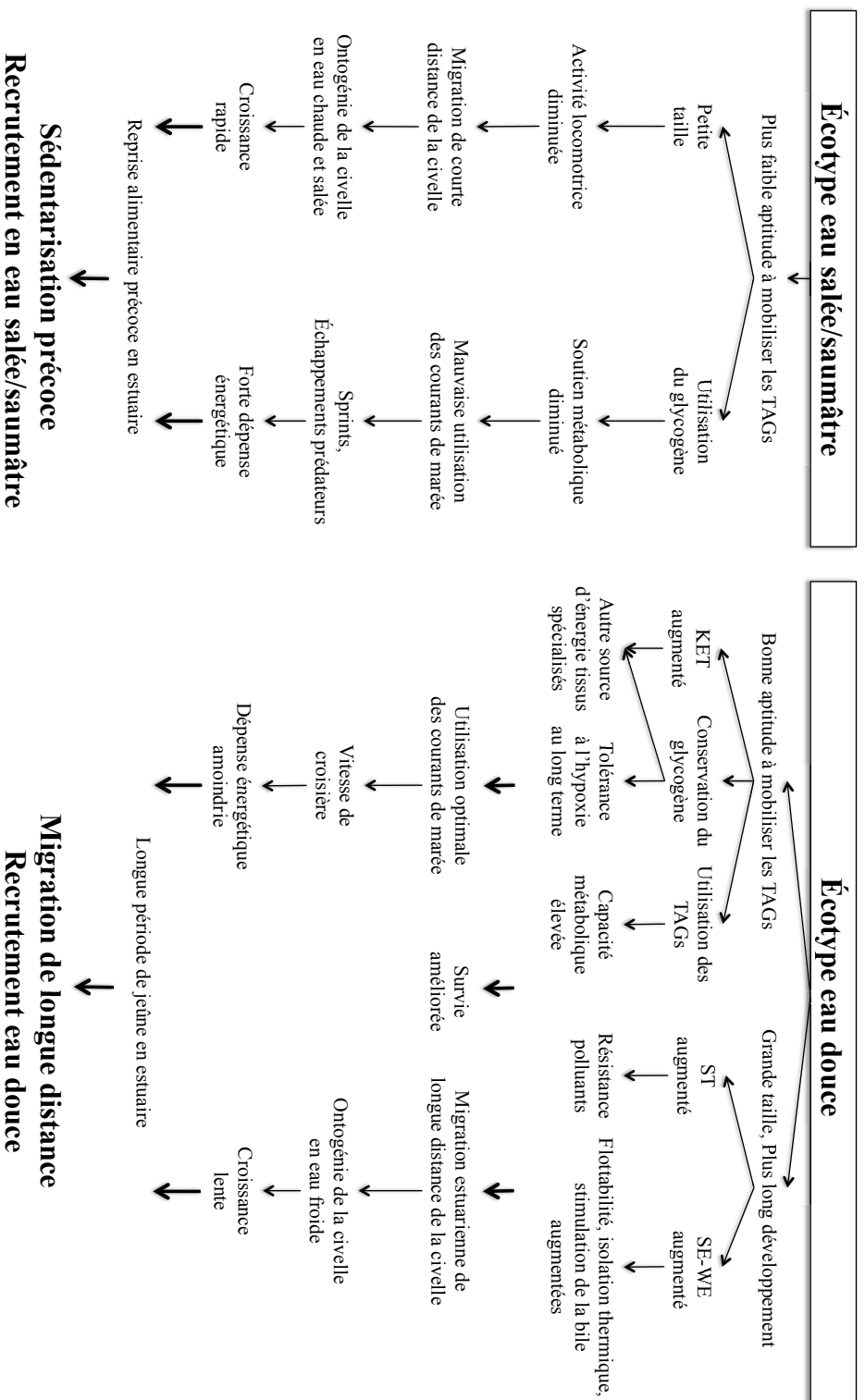


Figure 29 Proposition des mécanismes physiologiques et écologiques sous-jacents au recrutement des écotypes eau salée/saumâtre et d'eau douce

CHANGEMENT CLIMATIQUE ET CONSERVATION

Nos résultats ont permis de mettre en évidence que les écotypes de civelles avaient des aptitudes physiologiques et des performances métaboliques distinctes et spécifiques à l'habitat de recrutement. Nous remarquons que la capacité à utiliser efficacement les voies lipolytiques ainsi que la taille et un long développement larvaire sont des traits d'histoire de vie clés aux migrations estuariennes post-larvaires de longue distance dans des environnements nordiques. Ainsi, nos résultats suggèrent que le choix de l'habitat est génotype et taille dépendant, que les régions canadiennes représentent un environnement fondamental pour le développement de l'écotype d'eau douce et que l'écotype eau douce semble être spécialisé physiologiquement et génétiquement à ces habitats nordiques. Considérant que les principales conséquences de l'accélération des changements climatiques sont l'augmentation de la salinité, de la température de l'eau de surface, du niveau marin et des précipitations annuelles, l'acidification des océans et une diminution de l'oxygène dissous, nous pouvons prévoir 1) un déséquilibre trophique et des changements dans les interactions biotiques et abiotiques qui pourraient avoir des répercussions sur les niveaux des réserves énergétiques des civelles, 2) des changements locaux et régionaux des indices d'abondance des recrues (Sullivan *et al.*, 2009), 3) l'accélération des vitesses de croissance des recrues reliée à un effet de la salinité (Boivin *et al.*, 2015 ; Côté *et al.*, 2009), 4) un développement précoce relié à un effet de la température (Sullivan *et al.*, 2009), 5) un recrutement possiblement plus tardif dans les régions canadiennes, 6) une rétraction des migrations estuariennes de l'écotype eau douce et, 7) une distribution plus septentrionale de l'espèce (Reyes, 2008).

Je suggère que les mesures de réimplantation devraient respecter le temps imparti à l'ajustement développemental des jeunes stades, considérer l'écotype donné, son habitat de salinité, et la taille des individus (p. ex. Couillard *et al.*, 2014 ; p. ex. Larsson *et al.*, 1990 ; p. ex. Vøllestad, 1992) étant donné leur aptitude physiologique, génétique et potentiellement épigénétique, différentielle. Cependant, les conséquences évolutives et démographiques de telles mesures restent à être étudiées et pourraient être sous-estimées.

Par exemple, les anguilles réintroduites du lac Ontario n'auraient pas suffisamment de réserves en graisses pour atteindre la zone de frai en mer des Sargasses (Couillard *et al.*, 2014). D'autre part, un renversement de dominance des femelles vers celle des mâles a déjà été observé en nature chez l'anguille japonaise (Arai, 2016) et la prévisibilité, les causes et les conséquences de ce renversement ne sont pas expliquées.

Ainsi, je préconiserais en attendant de futures recherches, des mesures de conservation écologique pour assurer une meilleure qualité environnementale des milieux côtiers et continentaux tant pour l'écotype eau douce qui dépend des habitats nordiques, que pour l'écotype d'eau salée/saumâtre, qui dépend des milieux maritimes et enfin, de continuer à limiter la pêche dans les environnements les plus sensibles comme ceux du Canada et sur l'écotype eau douce. En effet, les impacts sur la physiologie des civelles sont documentés dans tous les types de milieux et sont spécifiques à l'habitat, tel ceux de la pollution sonore dans les habitats côtiers (Purser *et al.*, 2016) et dans les habitats continentaux, l'impact des polluants et des infections parasitaires sur le métabolisme des TAGs et la taille à maturité sexuelle (Couderc *et al.*, 2016 ; Marhon *et al.*, 2013 Pierron *et al.*, 2007). Ces déficiences physiologiques reliées à la mobilisation des TAGs peuvent nuire à la reproduction (Byer *et al.*, 2015), être transmises chez les descendants et affecter le recrutement de l'écotype eau douce (Damsteegt *et al.*, 2015). Ainsi, des modèles de dynamique de population région par région commencent à être explorés. De ce fait, de nouvelles actions de recherche multidisciplinaires (p. ex. Horodysky *et al.*, 2015 ; Hughes *et al.*, 2008) seraient profitables pour assurer la viabilité d'*A. rostrata* et des autres Anguillidés pour établir des plans de gestion éclairés pour soutenir les pêches et l'anguilliculture.

PERSPECTIVES

Grâce au caractère multidisciplinaire de ce projet doctoral, les résultats des analyses moléculaires et physiologiques témoignent d'une régulation post-transcriptionnelle des fonctions étudiées. Ils suggèrent la présence de mécanismes de régulation dans le contrôle des formes écotypiques pour expliquer la variabilité des phénotypes cellulaires de celle des phénotypes moléculaires observés dans notre étude. Ainsi, je préconise en premier lieu, d'étudier la plasticité génomique des écotypes des civelles *via* l'identification des gènes sensibles et des facteurs de contrôle moléculaires épigénétiques (p. ex. Aubin-Horth et Renn, 2009). Ces facteurs de contrôle pourraient être examinés selon différents signaux environnementaux tels que des différences de température, de photopériode et de salinité entre civelles d'âge et taille différents, c.-à-d. entre civelles en provenance de différentes localités, considérant la répartition latitudinale des écotypes documentée et la variabilité spatiale des phénotypes moléculaires observée dans notre étude. Ces nouvelles connaissances permettraient d'expliquer les processus qui contrôlent les stratégies métaboliques divergentes entre écotypes (lipolyse contre glycogénolyse) ainsi que les aptitudes différentes à la mobilisation des lipides de réserves, à la croissance somatique, musculaire et cellulaire que nous avons observées. D'autre part, les divergences fonctionnelles entre écotypes pourraient être mieux comprises ainsi que les effets de la variabilité environnementale sur le recrutement et les ajustements physiologiques entre écotypes et le potentiel adaptatif des anguilles dans des environnements variables.

Des régulations post-transcriptionnelles chez les anguilles japonaises ont déjà été observées dans des tissus spécialisés, dans les muscles en lien avec le stress oxydatif (Funahashi *et al.*, 2015) et dans les branchies en lien avec l'activité de la pompe sodium potassium et ses niveaux de transcrits, ainsi que ceux des transporteurs ioniques impliqués dans les échanges ioniques (William *et al.*, 2007). L'évaluation de l'activité de la pompe sodium potassium avait été suggérée au début de mon projet, mais le prélèvement de ce tissu chez les civelles était difficilement réalisable compte tenu de la nature du tégument et de leur petite taille (< 7 cm). Ainsi, des analyses moléculaires sont plutôt suggérées dans ce

cas-ci. L'étude des mécanismes de régulation des transcrits d'enzymes, d'hormones, de transporteurs, etc... impliqués dans les fonctions de la croissance, l'osmorégulation, la locomotion, le métabolisme énergétique selon leur spécificité tissulaire (hypophyse, follicules thyroïdiens, cerveau, foie, muscle blanc et rouge, branchies, intestin) permettrait une évaluation détaillée de l'ensemble des mécanismes de régulation métabolique qui interviennent dans le contrôle de la catadromie facultative.

Aussi, l'étude de possibles effets maternels sur le développement des civelles pourrait également être envisagée. En effet, des études démontrent que chez les anguilles les niveaux d'abondance des transcrits ovariens (p. ex. apolipoprotéines B, MTTP) impliqués dans le transport et l'absorption des TAGs, influencent l'absorption des TAGs durant la prévitellogénèse (Damsteegt *et al.*, 2015), que ceux impliqués dans le succès de l'éclosion, influencent la compétence du développement embryonnaire (Rozenfeld *et al.*, 2016) et que les conditions environnementales de la ponte peuvent influencer l'embryogénèse et la vitellogénèse (Mazzeo *et al.*, 2014 ; Politis *et al.*, 2014).

D'autre part, l'un des objectifs de notre étude était de clarifier l'état nutritionnel des civelles au recrutement *via* l'analyse des expressions géniques des transcrits de la ghréline et des récepteurs de la leptine, et de vérifier si la divergence écotypique dans les stratégies énergétiques était expliquée par des apports exogènes. L'absence de différences des transcrits de la ghréline et des récepteurs de la leptine ainsi que des contenus en lipides totaux, laisse croire que les civelles capturées avaient vécu sur leurs réserves endogènes. L'évaluation des contenus stomacaux, l'analyse des isotopes stable du carbone et de l'azote et des analyses de la composition en acide gras chez nos civelles, auraient pu confirmer ou infirmer nos hypothèses. L'analyse des cétones dans le mucus des civelles comme indicateur du jeûne pourrait également être explorée (Ramos et Smith, 1978). L'analyse des hormones circulantes telles que la ghréline, la leptine et l'insuline aurait également été un bon outil d'investigation, les niveaux d'insuline diminuant durant la période de jeûne chez les saumons (Silverstein et Plisetskaya, 2000). Cependant, les mesures de concentrations hormonales s'avèrent difficiles à réaliser.

En effet, malgré les nombreux ajustements de protocoles (civelle européenne : Imbert *et al.*, 2008, Edeline *et al.*, 2004 ; Edeline *et al.*, 2005 ; œufs et larves d'*O. kisutch* : Kobuke *et al.*, 1987 ; d'*O. keta* : Tagawa et Hirano 1987 ; de *Perca flavescens* : Gravel *et al.*, 2005) et une rencontre avec la directrice de recherche qui avait supervisé ces analyses sur des civelles européennes (Pr. Sylvie Dufour rencontrée en France, janvier 2013, UMR Borea, CNRS, MNHN, Paris), l'ensemble des résultats de nos dosages radio-immunologiques effectués sur une centaine d'homogénats de corps entier de civelles (individuels ou sur des pools de deux et trois individus) au début du projet se sont tous avérés donner des résultats négatifs ou en-deçà des limites de détection (cortisol < 1,7 ng/mL ; thyroxine < 7,6 ng/mL ; triiodothyronine < 0,067 ng/mL). L'absence de détection pourrait s'expliquer par la taille des individus. En effet, les civelles d'*A. rostrata* sont plus petites et plus maigres comparativement à celles d'*A. anguilla* (> 66 mm ; > 0,2 g ; p. ex. Edeline *et al.*, 2005), la quantité de sang étant équivalente à 1,1 % de la masse corporelle des civelles (Tesch, 2003). Ainsi, pour la réalisation de telles expériences, je préconiserais la mise au point de dosages homologues au lieu de l'utilisation de trousseaux commerciales afin d'ajuster la sensibilité de détection aux civelles *A. rostrata*. Également, l'utilisation du protocole de broyage et d'homogénéisation mis au point dans la présente étude pourrait être appliqué car il s'est révélé être efficace et performant compte tenu de la perméabilité, la robustesse, et l'épaisseur du tégument des anguilles. Il permet d'obtenir de bons rendements, un nombre plus élevé de répliques biologiques et assure une excellente conservation des molécules sensibles. Sinon, je suggèrerais comme alternative, d'autres analyses moléculaires pour des transcrits de neuropeptides impliqués dans la régulation de l'appétit tel que le neuropeptide Y (Silverstein et Plisetskaya, 2000) et l'orexine/hypocrétine (Matsuda *et al.*, 2012), ce qui aurait peut être permis de vérifier si nos écotypes avaient subsisté sur des apports exogènes et s'ils avaient développé des mécanismes adaptatifs alimentaires particuliers pour faire face aux approvisionnements alimentaires continus (écotype eau salée/saumâtre) ou discontinus (écotype eau douce).

La présente étude a permis d'identifier les profils des grandes classes de lipides chez les civelles. Ainsi le rôle de certaines classes de lipides reste à être exploré. Le rôle des cétones (KET) et de la cétogenèse, ou celui des cires et stérols estérifiés (SE-WE) comme lipides de structure ou de réserve (p. ex. Fraser *et al.*, 1988 ; Pernet *et al.*, 2007) seraient à confirmer. Le rôle des alcools aliphatiques libres (ALC) comme produit de la dégradation des stérols ou élément cellulaire impliqué dans la fluidité membranaire ainsi que, celui des lipides polaires libres dans l'acétone (AMPL) qui ne sont pas révélés être corrélés avec le niveau de pigmentation des civelles (données personnelles), seraient aussi à explorer. L'étude de la composition en acide gras polaire et non polaire permettrait d'expliquer comment les effets de la température modulent le remodelage membranaire et la composition des différents constituants cellulaires (p. ex. Pernet *et al.*, 2007). L'influence des conditions abiotiques sur chacune des classes étudiées dans l'Article 1 pourrait aussi apporter de nouvelles connaissances sur l'écophysiologie des civelles et permettre ainsi de mieux évaluer et prédire les conséquences écophysiologiques du changement global sur nos civelles.

Nous avons également étudié les relations entre les statuts énergétiques et l'indice de condition de Le Cren et observé une variabilité des mesures de lipides. Étudier les mêmes relations selon l'écotype donné aurait peut être amélioré la qualité des régressions linéaires. Cependant, un examen approfondi avec d'autres constituants corporels pourrait être envisagé afin d'obtenir un proxy qui fonctionne pour les deux écotypes. Étant donné que nous avons obtenu une forte significativité statistique avec le contenu en TAG et en SE-WE, et que l'hydrolyse de ces constituants peut être effectuée *via* la même lipase ou des lipases distinctes dépendamment de la longueur de leur chaîne d'acide gras polyinsaturés (PUFA) (Olsen et Ringø, 1997), l'étude des relations de l'indice de condition selon le contenu en PUFA pourrait être d'intérêt. Également, l'étude des effets de la température sur l'indice de condition pourrait être envisagé compte tenu de la forte variabilité spatio-temporelle de ce dernier et l'influence de la température sur le métabolisme, l'absorption des produits lipidiques et les enzymes digestives (Olsen et Ringø, 1997). Enfin, la mesure de l'indice de condition associée à celle du ratio ARN/ADN aurait permis aussi

d'évaluer les taux métaboliques individuels, de comparer les résultats avec ceux déjà établis tout en sachant que les apports alimentaires et la température peuvent aussi influencer ces niveaux (p. ex. *A. rostrata* : Laflamme *et al.*, 2012 ; *A. japonica* : Kawakami *et al.*, 1999).

Enfin, l'absence d'effets des préférences de salinité était inattendue. Cependant, l'expression des préférences de salinité de nos civelles a été analysée à une température de 16,9 ° C (Boivin *et al.*, 2015). Dans ces conditions, la majorité des civelles restaient en eau saumâtre et l'activité locomotrice était plus élevée chez les civelles de GRB, celles qui ont les aptitudes à la migration estuarienne de longue distance. Considérant que la migration en eau douce serait reliée à des aptitudes cognitives (Podgorniak *et al.*, 2015), il serait intéressant d'examiner les préférences de salinité entre écotypes selon les niveaux des transcrits de gènes reliés à la plasticité synaptique et la neurogénèse afin d'étudier les facteurs de contrôle des préférences et de les comparer selon différentes conditions environnementales. Comme la colonisation des rivières semble dépendre du niveau de développement des civelles et de la température de l'eau (Sullivan *et al.*, 2009), il serait intéressant d'examiner en conditions contrôlées les préférences de salinité entre écotypes à différentes températures et à différents niveaux de pigmentation afin de tester pour chacun, la flexibilité osmorégulatrice des civelles et d'évaluer les facteurs déclencheurs de la colonisation des rivières et les effets de la température sur le développement.

Finallement, les aspects multidisciplinaires comme ceux utilisés dans ce projet doctoral ont contribué à une plus large compréhension de la physiologie d'une espèce si énigmatique qu'est *A. rostrata* pour une meilleure conservation du patrimoine naturel dans la beauté de sa biodiversité.

ANNEXES

ANNEXE I

**SEQUENCES OF THE AMPLIFICATION PRODUCTS OBTAINED FOR ARP, CYTB, EF1, AND GHRL.
FOR TAGL, BAL, GPASE, AND LEP-R. SPECIFIC SEQUENCES FROM ANGUILLA ROSTRATA WERE
OBTAINED FROM A DRAFT ANNOTATED AMERICAN EEL GENOME
(PAVEY ET AL., UNPUBLISHED RESULTS)**

Gene (gene acronym)	Sequence used for primer design	Primer used for sequencing specific EST (melt temperature)	Taqman primers and probes used for measuring gene expressions (melt temperature)	qPCR efficiency
Reference genes				
Acidic ribosomal protein (ARP)	<i>A. anguilla</i> (GenBank accession no. AY763793)	F: GCCACCGTGAAAGTCCAATA (57) R: CAGCAGTTTCTCCAGAGCGG (58)	F: TCTCCCTGCGTGCAAAAG (59) R: CTTCCGATCATGCTGTCT (58) P: TGGTCTGATGGC (69)	$Y = -3.196 \times + 34.388$ $R^2 = 0.9993$
Cytochrome B (CytB)	<i>A. anguilla</i> (GenBank accession no. AF006714)	F: CATTCGCCGAGACGTCMACT (57) R: ATCTGCCCTCATCGAAGCAC (58)	F: TGATTCGCCGAGACGTCMAAC (58) R: GAGCCCCAATTTGATGATGAC (59) P: ATGATGATTAATTCC (68)	$Y = -3.1254 \times + 32.523$ $R^2 = 0.9992$
Elongation factor 1 (EF1)	<i>A. japonica</i> (GenBank accession no. AB593812)	F: CCTGAAGCCTGTATGCTGG (58) R: TACCTTCCACAGACCGAATTT (57)	F: TTGCCCCCGCAAGCT (58) R: GCGACTCATGTCGATTTCC (59) P: ACCACTGAGCTCAAGTC (68)	$Y = -3.3354 \times + 33.755$ $R^2 = 0.9998$
Target genes				
Thacylglycerol lipase (TAGL)	–	–	F: GCACCCCGTTCATGCTTT (60) R: ACCTTGCCTGCTGTTCTTG (59) P: ACCCGGAGAAC (69)	$Y = -3.356 \times + 39.015$ $R^2 = 0.9963$
Bile salt activated lipase (BAL)	–	–	F: TGATGCCGCTGTGAAAGATCA (59) R: GGTGAGACTCCAGCCAGACT (58) P: AGACCTGTGGCTCT (69)	$Y = -3.4627 \times + 40.166$ $R^2 = 0.99972$
Glycogen phosphorylase (GPase)	–	–	F: CGTCCCTCCACTTCTATG (59) R: AACCCATTTGACCCCATCTG (58) P: CAGACTGCAACCCAC (68)	$Y = -3.1649 \times + 36.873$ $R^2 = 0.99959$
Ghrelin (GHRL)	<i>A. japonica</i> (GenBank accession no. AB062427)	F: TCCAGACGCACTGGGTTTC (57) R: CCATCTGAGTCTGCTCTGCC (57)	F: GCTTACAGATGAGCAGATGA (59) R: GCAGCCAGACCAGCAGCAT (60) P: CGCACCCCATACAG (69)	$Y = -3.1767 \times + 41.44$ $R^2 = 1$
Leptin receptor (LEP-R)	–	–	F: CGGACGGCCCTTCTG (59) R: CTGAGGCTGCTGCTTAACTGT (58) P: TCCGTGACGCGACT (69)	$Y = -3.1034 \times + 38.65$ $R^2 = 0.99496$

ANNEXE II

SPECIFIC SEQUENCES (EXPRESSED SEQUENCE TAG [EST] OR CODING DNA SEQUENCE [CDS] FOR IGF-1R) LISTED FOR EACH GENE WITH THEIR NUMBERS OF BASE PAIRS.

EXCEPT FOR IGF-1R, THE PERCENTAGE OF SIMILARITY AND THE SCORE OBTAINED BETWEEN THESE SEQUENCES AND THE GENBANK SPECIES WITH THE BEST ALIGNMENT RESULTS ARE ALSO PROVIDED. ALIGNMENT RESULTS WERE EXTRACTED USING THE BASIC LOCAL ALIGNMENT SEARCH TOOL, BLAST® ([HTTP://BLAST.NCBI.NLM.NIH.GOV](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov), WEBSITE ACCESSED 12-06-2014).

Gene	Specific expressed sequence tag of <i>Argulilia rostrata</i> (number of base pairs)	Alignment	Results of
ARP	TGCCACGTGGAAAGTCCAACCTATTTATGAAATCATCAACTCTTGGAGTACCGCCAAAGTGCCTTCATTGTGGGGCCGACCAATG TGGCTCCAGCAGATGCAGACCATCCGCTCTCCCTGCTGCAAAAGGCTGTGGAGCTGATGGCCAAAGAACCCACATGATGCGCAAG GCCATCCGTGGCCATCTGGAGAACACCCCTCTGGAGAAACTCTGTAATCCCTATTTTCCAAAGCCCGAAAGCTTTGGCANATG TAAATTTGCCATAAAMCACTTTTGGCCAAAGAGTAATTCCTC (302bp)	AV63793.1 (<i>A. anguilla</i>) 99% 375	
Cy1B	TTCATCTGCCGAGCGTCAACTATGGATGATTAATGGCACTACATGCAATGGGCTCATTTCTTATCTGCCATACCT TCACATTGCCGAGGACTTACTACGGCTCATATCTTACAAAGAACATGAACATTGGAGTCGTATTATTCCTATTAGTAATAA TAACAGCATTGGTKEGGTATGTGCTTCCATGAGGCGAGATAAAGAA (218bp)	KJ546053 (<i>A. anguilla</i>) 99% 375	
EP1	TTCCCTGAAGCTGGTATGTGGTGAACCTTGCCCTGCCAAGCTGAGCCAGGCTGCAAGGCTGTGGAATGCACCATGAGTCCCT GCCTGAGGCTCTCCCGGTGACAAATGTTGGCTTCAAGCTCANGAACGTCTCTGTCAAGAAATCCGTCGTGGCAACGTAAA (167bp)	HM167094 (<i>A. japonica</i>) 100% 303	
PROL	TTCTTCCCTCCAAACCCCTCAGCACAAAGACAGGCTTTGAGAGTGCCEGAAATCAGAGCTGCTGTCCCTCGCCCGCGCTCCTGC TGTCTGGAAAGATCCCTGCTCCTGCTGCCCTCCAGAGCCGCCAGCTGTCCCATCCGAGAAACGCGCCATCTACAGCAAAA AGGGAACTCCAGGACCCAGTCCAAACAGCTGAGCTGTGGGCTGGACAGGCTGATTCACANGAATGGCTCCCTCCAAAGAAA (257bp)	AY616666 (<i>A. anguilla</i>) 99% 359	
TSH-β	TGCCCTCCAAAGATGAGAGTGGTCTCTGTCAGCGCCGCTCTCTGCCCTGTTAGCAGGACAGGTTCTCCATCTGCCAGTCCCTGIG GACTAAGAGCTGTACGTTGGAGAAACCAGAGTGTGACTTCTGCGTGGCCATCAACACACCATCTGCATGGGCTTCTGCTATTTCCCT GGTAAAGAGCTCCAGTCTGCAA (194bp)	AY158008.1 (<i>A. japonica</i>) 99% 348	
THRα	TTTTTCGTTTTGTTCGAGGGGTGAAATATCGCTTGCCGTGTAGTGTATTGNACTAGCTAGCTAGCCAGCTAGCCAAATATTAAAGC AAGCGCTGGTCACTGAGGCTGCTGACTTCTTAATTTCTCTCAAAAGAGACATATTTAAACTACAAAGAGCTAAGCATACGA TCGAGAAAGTGGTGAATACCCCTGGAGACCCGACCCCTCAGACAAAGAGAGTGGAGATTTGCCGGAGCTTGCCCATGAAA GA (260bp)	AB678206.1 (<i>A. japonica</i>) 99% 459	
THRα	TTTTACAGTGGTGGAAAGATCGAGAAGTGCACAGAGACATAMCTGCTGGCTTGCACACTACTATCAACTAGCCGCAAGCAAC ATTCCTCACTTCTGECCEAAGTGTGATGANGGTACAGACCTGCCGATGATGGGGGCTGTCACGCGCAGCCCGTTCTGCAAT GAAAGTGGAGTGCCTCCAGCACTCTTCCCTCCCTCTGGAGGCTTTCGAAAGACAGAGAGTGTGAAGCAGACAA (251bp)	AB678207.1 (<i>A. japonica</i>) 98% 435	
DIO-2	TTTAGCTGGCTTCAATAGCAGGACAGGCGATGAGTGTAACTGCTGGACTTGGCTCATCCGACCCGCTTJAGTGTCAACTT GGCTGGCCACCTGACCCCTTATCAGCCACTGCTGCTTCCGGCAGGTGGTGAAGAGTCTTGGATGTGGCCGACTTTCT CCTGGTGTACATGACGAGGCTCACCCCTCCGACATCTGGCGCCAGCCAGTGGAGGCGCATTCCTTCAAAGTACAGAAACACC GCAGCCTTGAGGAGCGAGTCTGGCTGCTCAGAGGAA (295bp)	AB199797.1 (<i>A. japonica</i>) 99% 514	
GH	AGCTCATAGTTATCGCCCTTATCTGTACAGGACGGTACTGCTGCCATCTCCTCAGCCCTGATCAAGTCAAGGGGJELATCCTC TGAAGACCCCTGAGGAGTGGTTTTCTCAACAGCCTGATGTTGGAACTCTGATGGGATCTTTGATFAAGCTGGAGGACCTGAACANG GGCATCAATGAATTAATGAAGGAAAAATGGGGTAA (207bp)	AY616666.1 (<i>A. anguilla</i>) 99% 359	
GH-R1	TCATCTTACCCCTTGGCTGTGGTAGGTGCCGGAGCCTCGCCGGAAAGGAGGCGCGAGACCGCTCCGAAAGCCCCCGCAGGGC CCCCACTTACCCGGCTGTTGTCTCGGGAGCAGGAAAGCTTCCTGTTGGTGGAGTGCCTGGAAAGCTTCCGAACTGACGGAAAC CGGGGCCCTGAGGGTCTTCTGCGCACTAGCTCCCTGGCCAGGAGAGTGTCCGACTACTCGGTCAACCGTGGCCGAACG AGTGCATTTCAACAGAGTACACATCCGGCTGGACCCAAATA (302bp)	AB180476.1 (<i>A. japonica</i>) 97% 501	
IGF-1	AACAGAGGTTTTATTCAATACACAGGCTATGATCCAGTCAAGTCAAGCCGCTCAGCAATGGTGGCATAGTGCAGCAGTGTCTGCTT CAGAGCTGGAGTACGGAGTGGAGATGACTGCGCACCAAGTGAACCTGCCAGGCTGCCCTGGTCCCTCAGGCGCACAGCGCCA CACGGACATNCCAAAAMCCAGAAANAATATGTCCTGGTAAANTANTCWCCATNSCTCAAGAGAGTGCATCAGAA (247bp)	AB353115.1 (<i>A. japonica</i>) 96% 416	
IGF-1R	GACGGAAGGGCGGTGACGTGCCGGAGCAGTGGAGGTCCCGGGGAGAAAGTCACTCTGTCTCGGAGCTGGGCCAGGGCTCGTT CGGCATGGTGTACGAGCGCATCGCAAGGCGTGGTCAAGGAGGCGCGTGGCCATCAGACGGTCAACGAGTCCGG CCAGCATGCGCGAGGCGCATCGATTTCTTCAAGGAGGCTCCGCTGATGAAGGAGTTCAACTGCCACCACGTGGTGGCTGGCTGGGC GTGGTTTCCGAGGGTCAAGCCACTCTGGTCAATTAATGAGAGTGAATGACCCGTGGAGACTCAAGAGTCACTGCGGCTCTGCGGGT CCAGGAG (351bp)	Parvey et al. Unpublished data.	

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABBOTT, R. J., et COMES, H. P. 2007. « Blowin' in the wind—the transition from ecotype to species ». *New Phytologist*, volume 175, numéro 2, pp. 197-200.
- ADRION, J. R., HAHN, M. W., et COOPER, B. S. 2015. « Revisiting classic clines in *Drosophila melanogaster* in the age of genomics ». *Trends in Genetics*, volume 31, numéro 8, pp. 434-444.
- ALBERT, V., JONSSON, B., et BERNATCHEZ, L. 2006. « Natural hybrids in Atlantic eels (*Anguilla anguilla*, *Anguilla rostrata*): evidence for successful reproduction and fluctuating abundance in space and time ». *Molecular Ecology*, volume 15, numéro 7, pp. 1903-1916.
- ALBERT, A. Y., SAWAYA, S., VINES, T. H., KNECHT, A. K., MILLER, C. T., SUMMERS, B. R., BALABHADRA, S., KINGSLEY, D. M., et SCHLUTER, D. 2008. « The genetics of adaptive shape shift in stickleback: pleiotropy and effect size ». *Evolution*, volume 62, numéro 1, pp. 76-85.
- ALS, T.D., HANSEN, M.M., MAES, G.E., CASTONGUAY, M., RIEMANN, L., AARESTRUP, K.I.M., MUNK, P., SPARHOLT, H., HANEL, R., et BERNATCHEZ, L. 2011. « All roads lead to home: Panmixia of European eel in the Sargasso Sea ». *Molecular Ecology*, volume 20, numéro 7, pp. 1333-1346.
- AOYAMA, J. 2009. « Life history and evolution of migration in catadromous eels (genus *Anguilla*) ». *Aqua Bio-Science Monographs*, volume 2, numéro 1, pp. 1-42.
- ARAI, T. 2014a. « Do we protect freshwater eels or do we drive them to extinction ». *SpringerPlus*, volume 3, pp. 534-544.
- ARAI, T. 2014b. « Evidence of local short-distance spawning migration of tropical freshwater eels, and implications for the evolution of freshwater eel migration ». *Ecology and Evolution*, volume 4, numéro 19, pp. 3812-3819.
- ARAI, T. 2016. *Biology and ecology of Anguillid eels*. Boca Raton, USA : CRC Press. 340 p.

- ARAI, T., OTAKE, T., et TSUKAMOTO, K. 2000. « Timing of metamorphosis and larval segregation of the Atlantic eels *Anguilla rostrata* and *A. anguilla*, as revealed by otolith microstructure and microchemistry ». *Marine Biology*, volume 137, numéro 1, pp. 39-45.
- ARAI, T., KOTAKE, A., LOKMAN, P.M., MILLER, M.J., et TSUKAMOTO, K. 2004. « Evidence of different habitat use by New Zealand freshwater eels *Anguilla australis* and *A. dieffenbachii*, as revealed by otolith microchemistry ». *Marine Ecology Progress Series*, volume 266, pp. 213-225.
- AUBIN-HORTH, N., et RENN, S. C. P. 2009. « Genomic reaction norms: using integrative biology to understand molecular mechanisms of phenotypic plasticity ». *Molecular Ecology*, volume 18, numéro 18, pp. 3763-3780.
- BAERWALD, M. R., MEEK, M. H., STEPHENS, M. R., NAGARAJAN, R. P., GOODBLA, A. M., TOMALTY, K. M., THORGAARD, G. H., MAY, B. et NICHOLS, K. M. 2015. « Migration-related phenotypic divergence is associated with epigenetic modifications in rainbow trout ». *Molecular Ecology*, doi : 10.1111/mec.13231
- BAILEY, S. F., et BATAILLON, T. 2016. « Can the experimental evolution programme help us elucidate the genetic basis of adaptation in nature? ». *Molecular Ecology*, volume 25, numéro 1, pp. 203-218.
- BAILLON, L., PIERRON, F., COUDRET, R., NORMENDEAU, E., CARON, A., PELUHET, L., LABADIE, P., BUDZINSKI, H., DURRIEU, G., et SARRACO, J. 2015. « Transcriptome profile analysis reveals specific signatures of pollutants in Atlantic eels ». *Ecotoxicology*, volume 24, numéro 1, pp. 71-84.
- BARDONNET, A., BOLLIET, V., et BELON, V. 2005. « Recruitment abundance estimation: Role of glass eel (*Anguilla anguilla* L.) response to light ». *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, volume 321, numéro 2, pp. 181-190.
- BARDONNET, A., et RIERA, P. 2005. « Feeding of glass eels (*Anguilla anguilla*) in the course of their estuarine migration: new insights from stable isotope analysis ». *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, volume 63, numéro 1-2, pp. 201-209.
- BARRY, J., MCHARG, K., DODD, J.A., et ADAMS, C. 2015. « Local scale, coastal currents influence recruitment to freshwater populations in the European eel *Anguilla anguilla*: a case study from the Isle of Man ». *Journal of Fish Biology* volume 86, numéro 6, pp. 1873-1880.

- BASTOS, A., RUNNING, S. W., GOUVEIA, C., et TRIGO, R. M. 2013. « The global NPP dependence on ENSO: La Niña and the extraordinary year of 2011 ». *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, volume 118, numéro 3, pp. 1247-1255.
- BEDADA, G., WESTERBERGH, A., MÜLLER, T., GALKIN, E., BDOLACH, E., MOSHELION, M., FRIDMAN, E., et SCHMID, K. J. 2014. « Transcriptome sequencing of two wild barley (*Hordeum spontaneum* L.) ecotypes differentially adapted to drought stress reveals ecotype-specific transcripts ». *BMC genomics*, volume 15, numéro 1, pp. 1-20.
- BEGUER-PON, M., BENCHETRIT, J., CASTONGUAY, M., AARESTRUP, K., CAMPANA, S.E., STOKESBURY, et M.J., DODSON, J.J. 2012. « Shark predation on migrating adult American eels (*Anguilla rostrata*) in the Gulf of St. Lawrence. » *PloS one*, volume 7, numéro 10, pp. e46830.
- BEGUER-PON, M., CASTONGUAY, M., BENCHETRIT, J., HATIN, D., VERREAULT, G., MAILHOT, Y., TREMBLAY, V., LEFAIVRE, D., LEGAULT, et M., STANLEY, D. 2014. « Large-scale migration patterns of silver American eels from the St. Lawrence River to the Gulf of St. Lawrence using acoustic telemetry ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 71, numéro 10, pp. 1579-1592.
- BEGUER-PON, M., CASTONGUAY, M., BENCHETRIT, J., HATIN, D., LEGAULT, M., VERREAULT, G., MAILHOT, Y., TREMBLAY, V., et DODSON, J.J. 2015a. « Large-scale, seasonal habitat use and movements of yellow American eels in the St. Lawrence River revealed by acoustic telemetry ». *Ecology of Freshwater Fish*, volume 24, numéro 1, pp. 99-111.
- BEGUER-PON, M., CASTONGUAY, M., SHAN, S., BENCHETRIT, J., et DODSON, J.J. 2015b. « Direct observations of American eels migrating across the continental shelf to the Sargasso Sea ». *Nature Communications*, volume 6, numéro 8705, pp. 1-9.
- BEGUER-PON, M., SHAN, S., THOMPSON, K.R., CASTONGUAY, M., SHENG, J., et DODSON, J.J. 2016. « Exploring the role of the physical marine environment in silver eel migrations using a biophysical particle tracking model ». *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, volume 73, numéro 1, pp. 57-74.
- BELDADE, P., MATEUS, A. R. A., et KELLER, R. A. 2011. « Evolution and molecular mechanisms of adaptive developmental plasticity ». *Molecular Ecology*, volume 20, numéro 7, pp. 1347-1363.

- BELLARD, C., BERTELSMEIER, C., LEADLEY, P., THUILLER, W., et COURCHAMP, F. 2012. « Impacts of climate change on the future of biodiversity ». *Ecology Letters*, volume 15, numéro 4, pp. 365-377.
- BENCHETRIT, J., BEGUER-PON, M., SIROIS, P., CASTONGUAY, M., FITZSIMONS, J., et DODSON, J.J., 2015. « Using otolith microchemistry to reconstruct habitat use of American eels *Anguilla rostrata* in the St. Lawrence River–Lake Ontario system ». *Ecology of Freshwater Fish*, doi : 10.1111/eff.12246.
- BENCHETRIT, J., et MCCLEAVE, J.D., 2015. « Current and historical distribution of the American eel *Anguilla rostrata* in the countries and territories of the Wider Caribbean ». *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, volume 73, numéro 1, pp. 2-13
- BERGLAND, A. O., BEHRMAN, E. L., O'BRIEN, K. R., SCHMIDT, P. S., et PETROV, D. A. 2014. « Genomic evidence of rapid and stable adaptive oscillations over seasonal time scales in *Drosophila* ». *PLoS Genet*, volume 10, numéro 11, pp. e1004775.
- BERNATCHEZ, L., ST-CYR, J., NORMANDEAU, E., MAES, G. E., ALS, T. D., KALUJNAIA, S., CRAMB, G., CASTONGUAY, M., et HANSEN, M. M. 2011. « Differential timing of gene expression regulation between leptocephali of the two *Anguilla* eel species in the Sargasso Sea ». *Ecology and Evolution*, volume 1, numéro 4, pp. 459-467.
- BEVACQUA, D., MELIA, P., GATTO, M., et DE LEO, G.A., 2015. « A global viability assessment of the European eel. *Global Change Biology* » volume 21, numéro 9, pp. 3323-3335.
- BIELAK, A. T., et POWER, G. 1986. « Changes in mean weight, sea-age composition, and catch-per-unit-effort of Atlantic salmon (*Salmo salar*) angled in the Godbout River, Quebec, 1859-1983 ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 43, numéro 2, pp. 281-287.
- BOIVIN, B., CASTONGUAY, M., AUDET, C., PAVEY, S. A., DIONNE, M., et BERNATCHEZ, L. 2015. « How does salinity influence habitat selection and growth in juvenile American eels *Anguilla rostrata*? ». *Journal Fish Biology*, volume 86, numéro 2, pp. 765-784.

- BRIAND, C., FATIN, D., CICCOTTI, E., et LAMBERT, P., 2005. « A stage-structured model to predict the effect of temperature and salinity on glass eel *Anguilla anguilla* pigmentation development ». *Journal of Fish Biology*, volume 67, numéro 4, pp. 993-1009.
- BUREAU DU COLOMBIER, S., BIOLLET, V., LAMBERT, P., et BARDONNET, A. 2007. « Energy and migratory behavior in glass eels (*Anguilla anguilla*) ». *Physiology & Behavior*, volume 92, numéro 4, pp. 684-690.
- BYER, J.D., LEBEUF, M., TROTTIER, S., RAACH, M., ALAEE, M., STEPHEN BROWN, R., BACKUS, S., CASSELMAN, J.M., et HODSON, P.V., 2015. « Trends of persistent organic pollutants in American eel (*Anguilla rostrata*) from eastern Lake Ontario, Canada, and their potential effects on recruitment ». *Science of The Total Environment*, volume 529, pp. 231-242.
- CAHILL, A. E., AIELLO-LAMMENS, M. E., FISHER-REID, M. C., HUA, X., KARANEWSKY, C. J., RYU, H. Y., SBEGLIA, G. C., SPAGNOLO, F., WALDRON, J. B., et WARSI, O. 2012. « How does climate change cause extinction? ». *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, pp. rspb20121890.
- CAIRNS, D. K., SHIAO, J. C., IIZUKA, Y., TZENG, W. N., et MACPHERSON, C. D. 2004. « Movement patterns of American eels in an impounded watercourse, as indicated by otolith microchemistry ». *North American Journal of Fisheries Management*, volume 24, numéro 2, pp. 452-458.
- CAIRNS, D. K., CHAPUT, G., POIRIER, L. A., AVERY, T. S., CASTONGUAY, M., MATHERS, A., CASSELMAN, J. M., BRADFORD, R. G., PRATT, T., VERREAULT, G., CLARKE, K., VEINOTT, G., et BERNATCHEZ, L. 2014. *Recovery potential assessment for the American Eel (Anguilla rostrata) for eastern Canada: life history, distribution, reported landings, status indicators, and demographic parameters*. Document 2013/134 xiv +. Ottawa, Canada : DFO Canadian Science Advisory Secretariat, 157p.
- CASTONGUAY, M., DUTIL, J.-D., AUDET, C., et MILLER, R. 1990. « Locomotor activity and concentration of thyroid hormones in migratory and sedentary juvenile American eels ». *Transactions of the American Fisheries Society*, volume 119, numéro 6, pp. 946-956.
- CASTONGUAY, M., HODSON, P. V., MORIARTY, C., DRINKWATER, K. F., et JESSOP, B. M. 1994a. « Is there a role of ocean environment in American and European eel decline? ». *Fisheries Oceanography*, volume 3, numéro 3, pp. 197-203.

- CASTONGUAY, M., HODSON, P. V., COUILLARD, C. M., ECKERSLEY, M. J., DUTIL, J.-D., et VERREAULT, G. 1994b. « Why is recruitment of the American eel, *Anguilla rostrata*, declining in the St. Lawrence River and Gulf? ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 51, numéro 2, pp. 479-488.
- CHEUNG, W. W. L., PAULY, D., et LAM, V. W. Y. 2008. « Modelling present and climate-shifted distribution of marine fishes and invertebrates ». Dans *Fisheries Centre research reports*, volume 16, numéro 3, pp. 1-76 Vancouver, Canada : University of British Columbia.
- CHEUNG, W. W. L., LAM, V. W. Y., SARMIENTO, J. L., KEARNEY, K., WATSON, R., ZELLER, D., et PAULY, D. 2010. « Large-scale redistribution of maximum fisheries catch potential in the global ocean under climate change ». *Global Change Biology*, volume 16, numéro 1, pp. 24-35.
- CHEUNG, W. W. L., PAULY, D., et SARMIENTO, J. L. 2013. « How to make progress in projecting climate change impacts ». *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, volume 70, numéro 6, pp. 1069-1074.
- CHINO, N., et ARAI, T. 2009. « Relative contribution of migratory type on the reproduction of migrating silver eels, *Anguilla japonica*, collected off Shikoku Island, Japan ». *Marine Biology*, volume 156, numéro 4, pp. 661-668.
- CHINO, N., et ARAI, T. 2010. « Habitat use and habitat transitions in the tropical eel, *Anguilla bicolor bicolor* ». *Environmental Biology of Fishes*, volume 89, numéro 3, pp. 571-578.
- CLAUSEN, J., KECK, D. D., et HIESEY, W. M. 1940. Experimental studies on the nature of species : Effect of varied environments on western North American plants. Volume 520. Washington, USA : Carnegie Institution of Washington Publication. 452 p.
- CLÉMENT, M., CHIASSON, A. G., VEINOTT, G., et CAIRNS, D. K. 2014. « What otolith microchemistry and stable isotope analysis reveal and conceal about anguillid eel movements across salinity boundaries ». *Oecologia*, volume 175, numéro 4, pp. 1-11.
- CONOVER, D. O. 2000. « Darwinian fishery science ». *Marine Ecology-Progress Series*, volume 208, pp. 303-307.

- COSEPAC. 2006. *Évaluation et Rapport de situation du COSEPAC sur l'Anguille d'Amérique Anguilla rostrata au Canada*. Rapport x+. Ottawa, Canada : Comité sur la situation des espèces en péril au Canada, 80 p.
- COSEPAC. 2012. *Évaluation et rapport de situation du Comité sur la situation des espèces en péril au Canada sur l'Anguille d'Amérique Anguilla rostrata au Canada*. Rapport xii+. Ottawa, Canada : Comité sur la situation des espèces en péril au Canada, 109 p.
- CÔTÉ, C. L., CASTONGUAY, M., VERREAULT, G., et BERNATCHEZ, L. 2009. « Differential effects of origin and salinity rearing conditions on growth of glass eels of the American eel *Anguilla rostrata*: implications for stocking programmes ». *Journal of Fish Biology*, volume 74, numéro 9, pp. 1934-1948.
- CÔTÉ, C. L., GAGNAIRE, P.-A., BOURRET, V., VERREAULT, G., CASTONGUAY, M., et BERNATCHEZ, L. 2013. « Population genetics of the American eel (*Anguilla rostrata*): $F_{ST} = 0$ and North Atlantic Oscillation effects on demographic fluctuations of a panmictic species ». *Molecular Ecology*, volume 22, numéro 7, pp. 1763-1776.
- CÔTÉ, C. L., CASTONGUAY, M., KALUJNAIA, M., CRAMB, G., et BERNATCHEZ, L. 2014. « In absence of local adaptation, plasticity and spatially varying selection rule: a view from genomic reaction norms in a panmictic species (*Anguilla rostrata*) ». *BMC Genomics*, volume 15, numéro 1, pp. 403-418.
- CÔTÉ, C. L., PAVEY, S. A., STACEY, J. A., PRATT, T. C., CASTONGUAY, M., AUDET, C., et BERNATCHEZ, L. 2015. « Growth, female, size, and sex ratio variability in American eel of different origins in both controlled conditions and the wild: Implications for Stocking Programs ». *Transactions of the American Fisheries Society*, volume 144, numéro 2, pp. 246-257.
- COUILLARD, C. M., VERREAULT, G., DUMONT, P., STANLEY, D., et THREADER, R. W. 2014. « Assessment of fat reserves adequacy in the first migrant silver American eels of a large-scale stocking experiment ». *North American Journal of Fisheries Management*, volume 34, numéro 4, pp. 802-813.
- COUDERC, M., MARCHAND, J., ZALOUK-VERGNOUX, A., KAMARI, A., MOREAU, B., BLANCHET-LETROUVÉ, I., LE BIZEC, B., MOUNEYRAC, C., et POIRIER, L. 2016. « Thyroid endocrine status of wild European eels (*Anguilla anguilla*) in the Loire (France). Relationships with organic contaminant body burdens ». *Science of the Total Environment*, volume 550, pp. 391-405.

- CRONIN, M. A., et MECH, L. D. 2009. « Problems with the claim of ecotype and taxon status of the wolf in the Great Lakes region ». *Molecular Ecology*, volume 18, numéro 24, pp. 4991-4993.
- DAI, X., ZHANG, W., ZHUO, Z., HE, J., et YIN, Z. 2015. « Neuroendocrine regulation of somatic growth in fishes ». *Science China Life Sciences*, volume 58, numéro 2, pp. 137-147.
- DAMSTEEGT, E. L., FALAHATIMARVAST, A., MCCORMICK, S. P., et LOKMAN, P. M. 2015. « Triacylglyceride physiology in the short-finned eel, *Anguilla australis*—changes throughout early oogenesis ». *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, volume 308, numéro 11, pp. R935-R944.
- DANCHIN, E., GIRALDEAU, L. A., et CEZILLY, F. 2008. *Behavioural Ecology*. Oxford, UK : OUP. 912 p.
- DAVERAT, F., TOMAS, J., LAHAYE, M., PALMER, M., et ELIE, P. 2005. « Tracking continental habitat shifts of eels using otolith Sr/Ca ratios : validation and application to the coastal, estuarine and riverine eels of the Gironde-Garonne-Dordogne watershed ». *Marine and Freshwater Research*, volume 56, numéro 5, pp. 619-627.
- DAVERAT, F., LIMBURG, K. E., THIBAUT, I., SHIAO, J. C., DODSON, J. J., CARON, F., TZENG, W. N., LIZUKA, Y., et WICKSTRÖM, H. 2006. « Phenotypic plasticity of habitat use by three temperate eel species, *Anguilla anguilla*, *A. japonica* and *A. rostrata* ». *Marine Ecology Progress Series*, volume 308, pp. 231-241.
- DEGANI, G. 1986. « Dietary effects of lipid source, lipid level and temperature on growth of glass eel (*Anguilla anguilla*) ». *Aquaculture*, volume 56, numéro 3-4, pp. 207-214.
- DE LAFONTAINE, Y., GAGNON, P., et CÔTÉ, B. 2010. « Abundance and individual size of American eel (*Anguilla rostrata*) in the St. Lawrence River over the past four decades ». *Hydrobiologia*, volume 647, numéro 1, pp. 185-198.
- DE JONG, G. 1995. « Phenotypic plasticity as a product of selection in a variable environment ». *American Naturalist*, volume 145, numéro 4, pp. 493-512.
- DE JONG, G. 1999. « Unpredictable selection in a structured population leads to local genetic differentiation in evolved reaction norms ». *Journal of Evolutionary Biology*, volume 12, numéro 5, pp. 839-851.

- DEKKER, W., et CASSELMAN, J. M. 2014. « The 2003 Québec declaration of concern about eel declines—11 Years Later: Are eels climbing back up the slippery slope? ». *Fisheries*, volume 39, numéro 12, pp. 613-614.
- DE MEEUS, T., BOUYER, J., RAVEL, S., et SOLANO, P. 2015. « Ecotype evolution in *Glossina palpalis* subspecies, major vectors of sleeping sickness ». *PLoS Neglected Tropical Diseases*, volume 9, numéro 3, pp. e0003497.
- DESAUNAY, Y., et GUEREAULT, D. 1997. « Seasonal and long-term changes in biometrics of eel larvae: a possible relationship between recruitment variation and North Atlantic ecosystem productivity ». *Journal of Fish Biology*, volume 51, numéro, pp. 317-339.
- DEWITT, T. J. 1998. « Costs and limits of phenotypic plasticity: tests with predator-induced morphology and life history in a freshwater snail ». *Journal of Evolutionary Biology*, volume 11, numéro 4, pp. 465-480.
- DFO, 2011. « The American Eel ». Dans *Species at Risk Act. Thématiques et objectifs*
En ligne. < http://www.inter.dfo-mpo.gc.ca/folios/00250/docs/factsheet_american_eel-eng.pdf>. Consulté le 5 février 2016
- DINGLE, H., et DRAKE, V. A. 2007. « What is migration? ». *Bioscience*, volume 57, numéro 2, pp. 113-121.
- DOBZHANSKY, T. 1970. Genetics of the evolutionary process. Volume 139. New York, USA : Columbia University Press. 505 p.
- DOLLERUP, J., et GRAVER, M. 1985. « Repeated induction of testicular maturation and spermiation, alternating with periods of feeding and growth in silver eels, *Anguilla anguilla* (L.) ». *Dana*, volume 4, pp. 19-39.
- DROTZ, M. K., BRODIN, T., SAURA, A., et GILES, B. E. 2012. « Ecotype differentiation in the face of gene flow within the diving beetle *Agabus bipustulatus* (Linnaeus, 1767) in northern Scandinavia ». *PLoS One*, volume 7, numéro 2, pp. e31381.
- DUFTY, A. M., CLOBERT, J., et MØLLER, A. P. 2002. « Hormones, developmental plasticity and adaptation ». *Trends in Ecology & Evolution*, volume 17, numéro 4, pp. 190-196.

- DURIF, C. M. F., BROWMAN, H. I., PHILLIPS, J. B., SKIFTESVIK, A. B., VØLLESTAD, L. A., et STOCKHAUSEN, H. H. 2013. « Magnetic Compass Orientation in the European Eel ». *PLoS One*, volume 8, numéro 3, pp. e59212.
- DUTIL, J. D., DUMONT, P., CAIRNS, D. K., GALBRAITH, P. S., VERREAULT, G., CASTONGUAY, M., et PROULX, S. 2009. « *Anguilla rostrata* glass eel migration and recruitment in the estuary and Gulf of St Lawrence ». *Journal of Fish Biology*, volume 74, numéro 9, pp. 1970-1984.
- EDELIN, E., DUFOUR, S., BRIAND, C., FATIN, D., et ELIE, P. 2004. « Thyroid status is related to migratory behavior in *Anguilla anguilla* glass eels ». *Marine Ecology Progress Series*, volume 282, pp. 261-270.
- EDELIN, E., BARDONNET, A., BOLLIET, V., DUFOUR, S., et ELIE, P. 2005. « Endocrine control of *Anguilla anguilla* glass eel dispersal: Effect of thyroid hormones on locomotor activity and rheotactic behavior ». *Hormones and Behavior*, volume 48, numéro 1, pp. 53-63.
- EDELIN, E., LAMBERT, P., RIGAUD, C., et ELIE, P. 2006. « Effects of body condition and water temperature on *Anguilla anguilla* glass eel migratory behaviour. ». *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, volume 331, numéro 2, pp. 217-225.
- EDELIN, E., DUFOUR, S., et ELIE, P. 2009. « Proximate and ultimate control of eel continental dispersal spawning migration of the European eel ». Dans *Spawning Migration of the European Eel, Reproduction index, a useful tool for conservation management*. Fish and Fisheries Series 30. pp. 433-461. New York, USA : Springer.
- ERNANDE, B., et DIECKMANN, U. 2004. « The evolution of phenotypic plasticity in spatially structured environments: implications of intraspecific competition, plasticity costs and environmental characteristics ». *Journal of Evolutionary Biology*, volume 17, numéro 3, pp. 613-628.
- FABIAN, D. K., LACK, J. B., MATHUR, V., SCHLÖTTERER, C., SCHMIDT, P. S., POOL, J. E., et FLATT, T. 2015. « Spatially varying selection shapes life history clines among populations of *Drosophila melanogaster* from sub-Saharan Africa ». *Journal of Evolutionary Biology*, volume 28, numéro 4, pp. 826-840.

- FEUNTEUN, E., MILLER, M. J., CARPENTIER, A., AOYAMA, J., DUPUY, C., KUROKI, M., PAGANO, M., RÉVEILLAC, E., SELLOS, D., et WATANABE, S. 2015. « Stable isotopic composition of anguilliform leptocephali and other food web components from west of the Mascarene Plateau ». *Progress in Oceanography*, volume 137, part A, pp. 69-83.
- FISHER, R. A., et BENNETT, J. H. 1930. The genetical theory of natural selection: A complete variorum edition. Oxford, UK : OUP. 138 p.
- FORD, T. E., et MERCER, E. 1986. « Density, size distribution and home range of American eels, *Anguilla rostrata*, in a Massachusetts salt marsh ». *Environmental Biology of Fishes*, volume 17, numéro 4, pp. 309-314.
- FORESTER, B. R., JONES, M. R., JOOST, S., LANDGUTH, E. L., et LASKY, J. R. 2016. « Detecting spatial genetic signatures of local adaptation in heterogeneous landscapes ». *Molecular ecology*, volume 25, numéro 1, pp. 104-120.
- FRASER, A. J., GAMBLE, J. C., et SARGENT, J. R. 1988. « Changes in lipid content, lipid class composition and fatty acid composition of developing eggs and unfed larvae of cod (*Gadus morhua*) ». *Marine Biology*, volume 99, numéro 3, pp. 307-313.
- FRANKHAM, R., BRISCOE, D. A., et BALLOU, J. D. 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge, UK : Cambridge University Press. 617 p.
- FUNAHASHI, A., KOMATSU, M., FURUKAWA, T., YOSHIKAWA, Y., YOSHIKAWA, H., ORIKAWA, Y., TAKUMI, S., SHIOZAKI, K., HAYASHI, S., et KAMINISHI, Y. 2016. « Eel green fluorescent protein is associated with resistance to oxidative stress ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, volume 181-182, pp. 35-39.
- FUTUYMA, D. J. 2013. Evolution. 3^e édition. Sunderland, USA : Sinauer Associates, Inc. Publishers, 656 p.
- GAGNAIRE, P.-A., ALBERT, V., JONSSON, B., et BERNATCHEZ, L. 2009. « Natural selection influences AFLP intraspecific genetic variability and introgression patterns in Atlantic eels ». *Molecular Ecology*, volume 18, numéro 8, pp. 1678-1691.
- GAGNAIRE, P.-A., NORMANDEAU, E., CÔTÉ, C., MØLLER-HANSEN, M., et BERNATCHEZ, L. 2011. « The effect of spatially varying selection on locally adaptive alleles in the panmictic American eel (*Anguilla rostrata*) ». *Genetics*, volume 190, numéro 2, pp. 725-736

- GAGNAIRE, P.-A., NORMANDEAU, E., et BERNATCHEZ, L. 2012. « Comparative genomics reveals adaptive protein evolution and a possible cytonuclear incompatibility between European and American eels ». *Molecular Biology and Evolution*, volume 29, numéro 10, pp. 2909-2919.
- GATTUSO, J.-P., MAGNAN, A., BILLE, R., CHEUNG, W. W. L., HOWES, E. L., JOOS, F., ALLEMAND, D., BOPP, L., COOLEY, S. R. et EAKIN, C. M. 2015. « Contrasting futures for ocean and society from different anthropogenic CO₂ emissions scenarios ». *Science*, volume 349, numéro 6 243, pp. aac4722
- GEFFROY, B., SADOUL, B., et BARDONNET, A. 2015. « Behavioural syndrome in juvenile eels and its ecological implications ». *Behaviour*, volume 152, numéro 2, pp. 147-166.
- GOMULKIEWICZ, R., et KIRKPATRICK, M. 1992. « Quantitative genetics and the evolution of reaction norms ». *Evolution*, volume 46, numéro 2, pp. 390-411.
- GRAVEL, A., CAMPBELL, P. G., et HONTELA, A. 2005. « Disruption of the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in 1+ yellow perch (*Perca flavescens*) chronically exposed to metals in the environment ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 62, numéro 5, pp. 982-990.
- GROSS, M. R., COLEMAN, M. R., et MCDOWALL, R. M. 1988. « Aquatic productivity and the evolution of diadromous fish migration ». *Science*, volume 239, numéro 4845, pp. 1291-1293.
- GRÜNEBERG, H. 1952. « Genetical studies on the skeleton of the mouse ». *Journal of Genetics*, volume 51, numéro 1, pp. 95-114.
- HANEL, R. 2014. « Changes in abundance of anguillid leptocephali in the Sargasso Sea ». Dans International Eel Symposium : Are Eels Climbing Back up the Slippery Slope?, Part 6 : 144th Annual Meeting of the American Fisheries Society. (Québec, 17-21 août 2014).
- HANSEN, M. M., OLIVIERI, I., WALLER, D. M., et NIELSEN, E. E. 2012. « Monitoring adaptive genetic responses to environmental change ». *Molecular Ecology*, volume 21, numéro 6, pp. 1311-1329.

- HARO, A. J., et KRUEGER, W. H. 1988. « Pigmentation, size, and migration of elvers (*Anguilla rostrata* (Lesueur)) in a coastal Rhode Island stream ». *Canadian Journal of Zoology*, volume 66, numéro 11, pp. 2528-2533.
- HARRISON, A. J., WALKER, A. M., PINDER, A. C., BRIAND, C., et APRAHAMIAN, M. W. 2014. « A review of glass eel migratory behaviour, sampling techniques and abundance estimates in estuaries: implications for assessing recruitment, local production and exploitation ». *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, volume 24, numéro 4, pp. 967-983.
- HARTL, D. L., et CLARK, A. G. 2007. Principles of population genetics. 4^e édition. Sunderland, USA. : Sinauer Associates. 652 p.
- HAYNES, J. 1992. « Supposed pronounced ecophenotypy in foraminifera ». *Journal of Micropalaeontology*, volume 11, numéro 1, pp. 59-63.
- HEDRICK, P. W. 1986. « Genetic polymorphism in heterogeneous environments: a decade later ». *Annual Review of Ecology and Systematics*, volume 17, pp. 535-566.
- HEDRICK, P. W., GINEVAN, M. E., et EWING, E. P. 1976. « Genetic Polymorphism in Heterogeneous Environments ». *Annual Review of Ecology and Systematics*, volume 7, numéro 1, pp. 1-32.
- HELFMAN, G. S. 2007. Fish conservation: a guide to understanding and restoring global aquatic biodiversity and fishery resources. Washington, USA : Island Press. 608 p.
- HENRY, J. P., et GOUYON, P. H. 2003. Précis de génétique des populations: cours, exercices et problèmes résolus. Paris, France : Dunod. 186 p.
- HILL, G. E., INOUE, C. Y., et MONTGOMERIE, R. 2002. « Dietary carotenoids predict plumage coloration in wild house finches ». *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, volume 269, numéro 1496, pp. 1119-1124.
- HODSON, P. V., CASTONGUAY, M., COUILLARD, C. M., DESJARDINS, C., PELLETIER, E., et MCLEOD, R. 1994. « Spatial and temporal variations in chemical contamination of American Eels, *Anguilla rostrata*, captured in the estuary of the St. Lawrence River ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 51, numéro 2, pp. 464-478.

- HORODYSKY, A. Z., COOKE, S. J., et BRILL, R. W. 2015. « Physiology in the service of fisheries science: Why thinking mechanistically matters ». *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, volume 25, numéro 3, pp. 425-447.
- HUGHES, A. R., INOUE, B. D., JOHNSON, M. T. J., UNDERWOOD, N., et VELLEND, M. 2008. « Ecological consequences of genetic diversity ». *Ecology Letters*, volume 11, numéro 6, pp. 609-623.
- HUTCHINGS, J. A. 2000. « Collapse and recovery of marine fishes ». *Nature*, volume 406, numéro 6798, pp. 882-885.
- HSU, H.-Y., CHEN, S.-H., CHA, Y.-R., TSUKAMOTO, K., LIN, C.-Y., et HAN, Y.-S. 2015. « De Novo assembly of the whole transcriptome of the wild embryo, preleptocephalus, leptocephalus, and glass eel of *Anguilla japonica* and deciphering the digestive and absorptive capacities during early development ». *PloS One*, volume 10, numéro 9, pp. e0139105.
- IFREMER. 2011. « Processus adaptatifs en réponse à l'environnement et l'exploitation ». Dans *Thématiques et objectifs* En ligne. < <http://wwz.ifremer.fr/manchemerdunord/Unite-Halieutique/Halieutique-Boulogne-sur-Mer/Axes-de-recherche/Ecologie-halieutique/Ecologie-evolutive/Thematique-et-objectifs>>. Consulté le 5 février 2016.
- IMBERT, H., ARROWSMITH, R., DUFOUR, S., et ELIE, P. 2008. « Relationships between locomotor behavior, morphometric characters and thyroid hormone levels give evidence of stage-dependent mechanisms in European eel upstream migration ». *Hormones and Behavior*, volume 53, numéro 1, pp. 69-81.
- INGLEY, S. J., BILLMAN, E. J., HANCOCK, C., et JOHNSON, J. B. 2014. « Repeated geographic divergence in behavior: a case study employing phenotypic trajectory analyses ». *Behavioral Ecology and Sociobiology*, volume 68, numéro 10, pp. 1577-1587.
- INOUE, J. G., MIYA, M., MILLER, M. J., SADO, T., HANEL, R., HATOOKA, K., AOYAMA, J., MINEGISHI, Y., NISHIDA, M., et TSUKAMOTO, K. 2010. « Deep-ocean origin of the freshwater eels ». *Biology Letters*, volume 6, numéro 3, pp. 363-366.
- IUCN. 2014. « The IUCN red list of threatened species » Dans *International Union for Conservation of Nature and Natural Resources*. En ligne. < <http://www.iucnredlist.org/>>. Consulté le 21 janvier 2016.

- JACOB, F., et MONOD, J. 1961. « On the regulation of gene activity ». *Communication présentée au Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, volume 26, pp. 193-211.
- JACOBY, D. M. P., CASSELMAN, J. M., CROOK, V., DELUCIA, M.-B., AHN, H., KAIFU, K., KURWIE, T., SASAL, P., SILFVERGRIP, A. M. C., SMITH, K. G., UCHIDA, K., WALKER, A. M., et GOLLOCK, M. J. 2015. « Synergistic patterns of threat and the challenges facing global anguillid eel conservation ». *Global Ecology and Conservation*, volume 4, pp. 321-333.
- JALABERT, B., et FOSTIER, A. 2010. La truite arc-en-ciel: De la biologie à l'élevage. Versailles, France : Éditions Quae. 336 p.
- JANZEN, F. J., et PAUKSTIS, G. L. 1991. « Environmental sex determination in reptiles: ecology, evolution, and experimental design ». *Quarterly Review of Biology*, volume 66, numéro 2, pp. 149-179.
- JESSOP, B. M. 2010. « Geographic effects on American eel (*Anguilla rostrata*) life history characteristics and strategies ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 67, numéro 2, pp. 326-346.
- JESSOP, B. M., SHIAO, J.-C., IIZUKA, Y., et TZENG, W.-N. 2002. « Migratory behaviour and habitat use by American eels *Anguilla rostrata* as revealed by otolith microchemistry ». *Marine Ecology Progress Series*, volume 233, pp. 217-229.
- JESSOP, B. M., SHIAO, J. C., IIZUKA, Y., et TZENG, W.-N. 2004. « Variation in the annual growth, by sex and migration history, of silver American eels *Anguilla rostrata* ». *Marine Ecology Progress Series*, volume 272, pp. 231-244.
- JESSOP, B. M., SHIAO, J., IIZUKA, Y., et TZENG, W.-N. 2006. « Migration of juvenile American eels *Anguilla rostrata* between freshwater and estuary, as revealed by otolith microchemistry ». *Marine Ecology Progress Series*, volume 310, pp. 219-233.
- JESSOP, B. M., CAIRNS, D. K., THIBAUT, I., et TZENG, W. N. 2008. « Life history of American eel *Anguilla rostrata*: new insights from otolith microchemistry ». *Aquatic biology*, volume 1, numéro 205, pp. 205-216.
- JESSOP, B. M., WANG, C.-H., TZENG, W.-N., YOU, C.-F., SHIAO, J.-C., et LIN, S.-H. 2012. « Otolith Sr:Ca and Ba:Ca may give inconsistent indications of estuarine habitat use for American eels (*Anguilla rostrata*) ». *Environmental Biology of Fishes*, volume 93, numéro 2, pp. 193-207.

- JOHNSON, G. D., IDA, H., SAKAUE, J., SADO, T., ASAHIDA, T., et MIYA, M. 2011. « A 'living fossil' eel (*Anguilliformes: Protoanguillidae*, fam. nov.) from an undersea cave in Palau ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, volume 279, numéro 1730, pp. 934-943.
- JOHNSTON, I. A., et DUNN, J. (1987). « Temperature acclimation and metabolism in ectotherms with particular reference to teleost fish ». *Communication présentée au Symposium Society for Experimental Biology*, volume 41, pp. 67-93.
- KAGAWA, H., TANAKA, H., OHTA, H., UNUMA, T., et NOMURA, K. 2005. « The first success of glass eel production in the world: basic biology on fish reproduction advances new applied technology in aquaculture ». *Fish Physiology and Biochemistry*, volume 31, numéro 2, pp. 193-199.
- KARLIN, S., et CAMPBELL, R. B. 1981. « The existence of a protected polymorphism under conditions of soft as opposed to hard selection in a multideme population system ». *American Naturalist*, volume 117, numéro 3, pp. 262-275.
- KAWAKAMI, Y., MOCHIOKA, N., KIMURA, R., et NAKAZONO, A. 1999. « Seasonal changes of the RNA/DNA ratio, size and lipid contents and immigration adaptability of Japanese glass-eels, *Anguilla japonica*, collected in northern Kyushu, Japan ». *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, volume 238, numéro 1, pp. 1-19.
- KAWECKI, T. J., et EBERT, D. 2004. « Conceptual issues in local adaptation ». *Ecology Letters*, volume 7, numéro 12, pp. 1225-1241.
- KOBUKE, L., SPECKER, J. L., et BERN, H. A. 1987. « Thyroxine content of eggs and larvae of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* ». *Journal of Experimental Zoology*, volume 242, numéro 1, pp. 89-94.
- KOEHN, R. K., et WILLIAMS, G. C. 1978. « Genetic differentiation without isolation in the American eel, *Anguilla rostrata*. II. Temporal stability of geographic patterns ». *Evolution*, volume 32, numéro 3, pp. 624-637.
- KUROKI, M., AOYAMA, J., MILLER, M. J., WOUTHUYZEN, S., ARAI, T., et TSUKAMOTO, K. 2006. « Contrasting patterns of growth and migration of tropical anguillid leptocephali in the western Pacific and Indonesian Seas ». *Marine Ecology Progress Series*, volume 309, pp. 233-246.

- KUROKI, M., RIGHTON, D., et M WALKER, A. 2014. « The importance of Anguillids: a cultural and historical perspective introducing papers from the World Fisheries Congress ». *Ecology of Freshwater Fish*, volume 23, numéro 1, pp. 2-6.
- LACOURSIÈRE-ROUSSEL, A., CÔTÉ, G., LECLERC, V., et BERNATCHEZ, L. 2016. « Quantifying relative fish abundance with eDNA: a promising tool for fisheries management ». *Journal of Applied Ecology*, doi : 10.1111/1365-2664.12598, pp. 1-10.
- LAFLAMME, S., CÔTÉ, C., GAGNAIRE, P.-A., CASTONGUAY, M., et BERNATCHEZ, L. 2012. « RNA/DNA ratios in American glass eels (*Anguilla rostrata*): evidence for latitudinal variation in physiological status and constraints to oceanic migration? ». *Ecology and Evolution*, volume 2, numéro 5, pp. 875-884.
- LAMSON, H. M, SHIAO, J. C., IIZUKA, Y., TZENG, W.-N., et CAIRNS, D. 2006. « Movement patterns of American eels (*Anguilla rostrata*) between salt- and freshwater in a coastal watershed, based on otolith microchemistry. ». *Marine Biology*, volume 149, numéro 6, pp. 1567-1576.
- LAMSON, H. M., CAIRNS, D. K., SHIAO, J. C., IIZUKA, Y., et TZENG, W.-N. 2009. « American eel, *Anguilla rostrata*, growth in fresh and salt water: implications for conservation and aquaculture ». *Fisheries Management and Ecology*, volume 16, numéro 4, pp. 306-314.
- LANDE, R. 1988. « Genetics and demography in biological conservation ». *Science*, volume 241, numéro 4872, pp. 1455-1460.
- LAPORTE, M., PAVEY, S. A., ROUGEUX, C., PIERRON, F., LAUZENT, M., BUDZINSKI, H., LABADIE, P., GENESTE, E., COUTURE, P., et BAUDRIMONT, M. 2016. « RAD sequencing reveals within-generation polygenic selection in response to anthropogenic organic and metal contamination in North Atlantic Eels ». *Molecular Ecology*, volume 25, numéro 1, pp. 219-237.
- LARSSON, P., HAMRIN, S., et OKLA, L. 1990. « Fat content as a factor inducing migratory behavior in the eel (*Anguilla anguilla* L.) to the Sargasso Sea ». *Naturwissenschaften*, volume 77, numéro 10, pp. 488-490.
- LAW, R. 2000. « Fishing, selection, and phenotypic evolution ». *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, volume 57, numéro 3, pp. 659-668.

- LE CORRE, V., et KREMER, A. 2012. « The genetic differentiation at quantitative trait loci under local adaptation ». *Molecular Ecology*, volume 21, numéro 7, pp.1548-1566.
- LEVINS, R. 1963. « Theory of fitness in a heterogeneous environment. II. Developmental flexibility and niche selection ». *The American Naturalist*, volume 97, numéro 893, pp. 75-90.
- LINTON, E., JÓNSSON, B., et NOAKES, D. 2007. « Effects of water temperature on the swimming and climbing behaviour of glass eels, *Anguilla spp.* ». *Environmental Biology of Fishes*, volume 78, numéro 3, pp. 189-192.
- LIVELY, C. M. 1986. « Canalization versus developmental conversion in a spatially variable environment ». *American Naturalist*, volume 128, numéro 4, pp. 561-572.
- LUCEK, K., SIVASUNDAR, A., et SEEHAUSEN, O. 2014. « Disentangling the role of phenotypic plasticity and genetic divergence in contemporary ecotype formation during a biological invasion ». *Evolution*, volume 68, numéro 9, pp. 2619-2632.
- LYELL, C. 1877. *Principles of geology; or, the modern changes of the earth and its inhabitants considered as illustrative of geology*, volume 1. London, UK : D. Appleton, 1323 p.
- MACGREGOR, R., MATHERS, A., THOMPSON, P., CASSELMAN, J. M., DETTMERS, J. M., LAPAN, S., PRATT, T. C., et ALLEN, B. 2008. « Declines of American eel in North America: complexities associated with bi-national management ». *International Governance of Fisheries Ecosystems 2008. American Fisheries Society Symposium*, volume 62, pp. 357-381.
- MACNAIR, M. R. 1991. « Why the evolution of resistance to anthropogenic toxins normally involves major gene changes: the limits to natural selection ». *Genetica*, volume 84, numéro 3, pp. 213-219.
- MALLET, J., MEYER, A., NOSIL, P., et FEDER, J. L. 2009. « Space, sympatry and speciation ». *Journal of Evolutionary Biology*, volume 22, numéro 11, pp. 2332-2341.
- MAROHN, L., JAKOB, E., et HANEL, R. 2013. « Implications of facultative catadromy in *Anguilla anguilla*. Does individual migratory behaviour influence eel spawner quality? ». *Journal of Sea Research*, volume 77, pp. 100-106.

- MARTIN, M. H. 1995. « The effects of temperature, river flow, and tidal cycles on the onset of glass eel and elver migration into fresh water in the American eel ». *Journal of Fish Biology*, volume 46, numéro 5, pp. 891-902.
- MATSUDA, K., AZUMA, M., et KANG, K. S. 2012. « Orexin system in teleost fish ». Dans *Vitamines et Hormones volume 89*. Chapitre 18, pp. 341-346. Toluca Lake, USA : Academic Press. 370 p.
- MAYNARD SMITH, J. 1982. *Evolution and the theory of games*. Cambridge, UK : Cambridge University Press. 224 p.
- MAZZEO, I., PEÑARANDA, D., GALLEGO, V., BALOCHE, S., NOURIZADEH-LILLABADI, R., TVEITEN, H., DUFOUR, S., ASTURIANO, J., WELTZIEN, F.-A., et PÉREZ, L. 2014. « Temperature modulates the progression of vitellogenesis in the European eel ». *Aquaculture*, volume 434, pp. 38-47.
- MCDOWALL, R. M. 1997. « The evolution of diadromy in fishes (revisited) and its place in phylogenetic analysis ». *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, volume 7, numéro 4, pp. 443-462.
- MILLER, M. J., CHIKARAISHI, Y., OGAWA, N. O., YAMADA, Y., TSUKAMOTO, K., et OHKOUCHI, N. 2013. « A low trophic position of Japanese eel larvae indicates feeding on marine snow ». *Biology Letters*, volume 9, numéro 1, pp. 1-5.
- MIYAZAKI, S., KIM, H.-Y., ZENIMOTO, K., KITAGAWA, T., MILLER, M., et KIMURA, S. 2011. « Stable isotope analysis of two species of anguilliform leptocephali (and) relative to their feeding depth in the North Equatorial Current region ». *Marine Biology*, volume 11, numéro 158, pp. 2555-2564.
- MOORE, W. S., et PRICE, J. T. 1993. « Nature of selection in the northern flicker hybrid zone and its implications for speciation theory ». pp. 196-225 Dans *Hybrid zones and the evolutionary process*, New York, USA : Oxford University Press, 364 p.
- MORAN, N. A. 1992. « The evolutionary maintenance of alternative phenotypes ». *American Naturalist*, volume 139, numéro 5, pp. 971-989.
- MORRIS, M. R. J., RICHARD, R., LEDER, E. H., BARRETT, R. D. H., AUBINHORTH, N., et ROGERS, S. M. 2014. « Gene expression plasticity evolves in response to colonization of freshwater lakes in threespine stickleback ». *Molecular Ecology*, volume 23, numéro 13, pp. 3226-3240.

- MOURA, A. E., KENNY, J. G., CHAUDHURI, R., HUGHES, M. A., J WELCH, A., REISINGER, R. R., BRUYN, P. J., DAHLHEIM, M. E., HALL, N., et HOELZEL, A. R. 2014. « Population genomics of the killer whale indicates ecotype evolution in sympatry involving both selection and drift ». *Molecular Ecology*, volume 23, numéro 21, pp. 5179-5192.
- MUNK, P., HANSEN, M. M., MAES, G. E., NIELSEN, T. G., CASTONGUAY, M., RIEMANN, L., SPARHOLT, H., ALS, T. D., AARESTRUP, K., ANDERSEN, N. G., et BACHLER, M. 2010. « Oceanic fronts in the Sargasso Sea control the early life and drift of Atlantic eels ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, volume 277, numéro 1700, pp. 3593-3599.
- NOAA. 2016. « El Niño Today ». Dans *El Niño Theme Page Pacific Marine Environmental Laboratory*. En ligne. < <http://www.pmel.noaa.gov/elniño/status> >. Consulté le 5 février 2016.
- NEVENZEL, J. C. 1970. « Occurrence, function and biosynthesis of wax esters in marine organisms ». *Lipids*, volume 5, numéro 3, pp. 308-319.
- NING, L., et BRADLEY, R. S. 2015. « Winter climate extremes over the northeastern United States and southeastern Canada and teleconnections with large-scale modes of climate variability ». *Journal of Climate*, volume 28, numéro 6, pp. 2475-2493.
- NISHI, T., et KAWAMURA, G. 2005. « *Anguilla japonica* is already magnetosensitive at the glass eel phase ». *Journal of Fish Biology*, volume 67, numéro 5, pp. 1213-1224.
- OAKESHOTT, J. G., GIBSON, J. B., ANDERSON, P. R., KNIBB, W. R., ANDERSON, D. G., et CHAMBERS, G. K. 1982. « Alcohol dehydrogenase and glycerol-3-phosphate dehydrogenase clines in *Drosophila melanogaster* on different continents ». *Evolution*, volume 36, numéro 1, pp. 86-96.
- OKAMURA, A., YAMADA, Y., MIKAWA, N., HORIE, N., et TSUKAMOTO, K. 2012. « Effect of starvation, body size, and temperature on the onset of metamorphosis in Japanese eel (*Anguilla japonica*) ». *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, volume 90, numéro 12, pp. 1378-1385.
- OLIVEIRA, K. 1999. « Life history characteristics and strategies of the American eel, *Anguilla rostrata* ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 56, numéro 5, pp. 795-802.

- OLIVEIRA, K., et HABLE, W. E. 2010. « Artificial maturation, fertilization, and early development of the American eel (*Anguilla rostrata*) ». *Canadian Journal of Zoology*, volume 88, numéro 11, pp. 1121-1128.
- OLSEN, R. E., et RINGØ, E. 1997. « Lipid digestibility in fish: a review ». *Recent Research Developments in Lipid Research*, volume 1, pp. 199-265.
- PAVEY, S. A., GAUDIN, J., NORMANDEAU, E., DIONNE, M., CASTONGUAY, M., AUDET, C., et BERNATCHEZ, L. 2015. « RAD sequencing highlights polygenic discrimination of habitat ecotypes in the panmictic American eel ». *Current Biology*, volume 25, numéro 12, pp. 1666-1671.
- PERIVIER, H. A. 2015. « A spatial and geophysical exploration of Atlantic eel larval distributions ». Master's thesis, Cambridge, USA : Harvard Extension School, 190 p.
- PERNET, F., TREMBLAY, R., COMEAU, L., et GUDERLEY, H. 2007. « Temperature adaptation in two bivalve species from different thermal habitats: energetics and remodelling of membrane lipids ». *Journal of Experimental Biology*, volume 210, numéro 17, pp. 2999-3014.
- PFENNIG, D. W. 1992. « Polyphenism in spadefoot toad tadpoles as a logically adjusted evolutionarily stable strategy ». *Evolution*, volume 46, numéro 5, pp. 1408-1420.
- PFENNIG, D. W., WUND, M. A., SNELL-ROOD, E. C., CRUICKSHANK, T., SCHLICHTING, C. D., et MOCZEK, A. P. 2010. « Phenotypic plasticity's impacts on diversification and speciation ». *Trends in Ecology & Evolution*, volume 25, numéro 8, pp. 459-467.
- PHILIPPART, C. J. M., ANADON, R., DANOVARO, R., DIPPNER, J. W., DRINKWATER, K. F., HAWKINS, S. J., OGUZ, T., O'SULLIVAN, G., REID, P. C. 2011. « Impacts of climate change on European marine ecosystems: observations, expectations and indicators ». *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, volume 400, numéro 1, pp. 52-69.
- PIERRON, F., BAUDRIMONT, M., BOSSY, A., BOURDINEAUD, J.-P., BRÈTHES, D., ELIE, P., et MASSABUAU, J.-C. 2007. « Impairment of lipid storage by cadmium in the European eel (*Anguilla anguilla*) ». *Aquatic Toxicology*, volume 81, numéro 3, pp. 304-311

- PIGLIUCCI, M. 1996. « How organisms respond to environmental changes: from phenotypes to molecules (and vice versa) ». *Trends in Ecology & Evolution*, volume 11, numéro 4, pp. 168-173.
- PIGLIUCCI, M. 2001. Phenotypic plasticity: beyond nature and nurture. Baltimore, USA : Johns Hopkins University Press. 328 p.
- PODGORNIAK, T., ANGELINI, A., BLANCHET, S., DE OLIVEIRA, E., PIERRON, F., et DAVERAT, F. 2015. « Climbing experience in glass eels: A cognitive task or a matter of physical capacities? ». *Physiology & Behavior*, volume 151, pp. 448-455.
- POLITIS, S. N., BUTTS, I. A. E., et TOMKIEWICZ, J. 2014. « Light impacts embryonic and early larval development of the European eel, *Anguilla anguilla* ». *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, volume 461, pp. 407-415.
- PÖRTNER, H. 2001. « Climate change and temperature-dependent biogeography: oxygen limitation of thermal tolerance in animals ». *Naturwissenschaften*, volume 88, numéro 4, pp. 137-146.
- PURSER, J., BRUINTJES, R., SIMPSON, S. D., et RADFORD, A. N. 2016. « Condition-dependent physiological and behavioural responses to anthropogenic noise ». *Physiology & Behavior*, volume 155, pp. 157-161.
- QUINN, T. P., HODGSON, S., FLYNN, L., HILBORN, R., et ROGERS, D. E. 2007. « Directional selection by fisheries and the timing of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) migrations ». *Ecological Applications*, volume 17, numéro 3, pp. 731-739.
- RALPH, P., et COOP, G. 2010. « Parallel adaptation: One or many waves of advance of an advantageous allele? ». *Genetics*, numéro 186, volume 2, pp. 647-668.
- RAMOS, F., et SMITH, A. C. 1978. « Ketone bodies in fish skin mucus as an indicator of starvation: a preliminary report ». *Journal of Fish Biology*, volume 12, numéro 2, pp. 105-108.
- REID, S. M., et HOGG, S. 2014. « Reinforcement of American eel *Anguilla rostrata* populations in eastern Lake Ontario tributaries, Ontario, Canada ». *Conservation Evidence*, volume 11, pp. 29-33.

- REYES, K. K. 2008. « Reviewed native distribution map for *Anguilla rostrata* (American eel), with modelled year 2100 native range map based on IPCC A2 emissions scenario » Dans *AquaMaps*. < <http://www.aquamaps.org/>>. En ligne. Consulté le 19 avril 2016.
- RHEIN, M. A., RINTOUL, S. R., AOKI, S., CAMPOS, E., CHAMBERS, D., FEELY, R. A., GULEV, S., JOHNSON, G. C., JOSEY, S. A., et KOSTIANOY, A. 2013. « Observations: Ocean ». Dans *Climate change 2013 : The physical science basis*, Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. pp. 255-315. Cambridge, UK : Cambridge University Press.
- RICKLEFS, R. E., MILLER, G. L., et BUGNICOURT, M. 2005. *Écologie*. 1^e édition. Bruxelles, Belgique : De Boeck Supérieur. 819 p.
- RIGAUD, C., COUILLARD, C. M., PELLERIN, J., LÉGARÉ, B., BYER, J. D., ALAEE, M., LEBEUF, M., CASSELMAN, J. M., et HODSON, P. V. 2016. « Temporal variations in embryotoxicity of Lake Ontario American eel (*Anguilla rostrata*) extracts to developing *Fundulus heteroclitus* ». *Science of The Total Environment*, volume 541, pp. 765-775.
- ROBERTSON, J. C., et HAZEL, J. R. 1999. « Influence of temperature and membrane lipid composition on the osmotic water permeability of teleost gills ». *Physiological and Biochemical Zoology*, volume 72, numéro 5, pp. 623-632.
- ROZENFELD, C., BUTTS, I. A. E., TOMKIEWICZ, J., ZAMBONINO-INFANTE, J.-L., et MAZURAI, D. 2016. « Abundance of specific mRNA transcripts impacts hatching success in European eel, *Anguilla anguilla* L ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, volume 191, pp. 59-65.
- RYPINA, I. I., LLOPIZ, J. K., PRATT, L. J., et LOZIER, M. S. 2014. « Dispersal pathways of American eel larvae from the Sargasso Sea ». *Limnology and Oceanography*, volume 59, numéro 5, pp. 1704-1714.
- SAVOLAINEN, O., LASCOUX, M., et MERILÄ, J. 2013. « Ecological genomics of local adaptation ». *Nature Reviews Genetics*, volume 14, numéro 11, pp. 807-820.
- SCHEINER, S. M. 1993. « Genetics and evolution of phenotypic plasticity ». *Annual Review of Ecology and Systematics*, volume 24, pp. 35-68.

- SCHLICHTING, C. D., et PIGLIUCCI, M. 1995. « Gene regulation, quantitative genetics and the evolution of reaction norms ». *Evolutionary Ecology*, volume 9, numéro 2, pp. 154-168.
- SCHLICHTING, C. D., et PIGLIUCCI, M. 1998. Phenotypic evolution: a reaction norm perspective. Sunderland, UK : Sinauer Associates Incorporated. 387 pp.
- SCHWEIZER, R. M., VONHOLDT, B. M., HARRIGAN, R., KNOWLES, J. C., MUSIANI, M., COLTMAN, D., NOVEMBRE, J., et WAYNE, R. K. 2016. « Genetic subdivision and candidate genes under selection in North American grey wolves ». *Molecular Ecology*, volume 25, numéro 1, pp. 380-402.
- SHABBAR, A., et KHANDEKAR, M. 1996. « The impact of el Nino-Southern oscillation on the temperature field over Canada: Research note ». *Atmosphere-Ocean*, volume 34, numéro 2, pp. 401-416.
- SHABBAR, A., BONSAI, B., et KHANDEKAR, M. 1997. « Canadian precipitation patterns associated with the Southern Oscillation ». *Journal of Climate*, volume 10, numéro 12, pp. 3016-3027.
- SHERIDAN, M. A. 1988. « Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, volume 90, numéro 4, pp. 679-690.
- SILVERSTEIN, J. T., et PLISETSKAYA, E. M. 2000. « The effects of NPY and insulin on food intake regulation in fish ». *American Zoologist*, volume 40, numéro 2, pp. 296-308.
- SOUZA, J. J., POLUHOWICH, J. J., et GUERRA, R. J. 1988. « Orientation responses of American eels, *Anguilla rostrata*, to varying magnetic fields ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, volume 90, numéro 1, pp. 57-61.
- STERN, D. L., et EMLÉN, D. J. 1999. « The developmental basis for allometry in insects ». *Development*, volume 126, numéro 6, pp. 1091-1101.
- STORZ, J. F., et KELLY, J. K. 2008. « Effects of spatially varying selection on nucleotide diversity and linkage disequilibrium: insights from deer mouse globin genes ». *Genetics*, volume 180, numéro 1, pp. 367-379.

- SULLIVAN, M. C., ABLE, K. W., HARE, J. A., et WALSH, H. J. 2006. « *Anguilla rostrata* glass eel ingress into two, U.S. east coast estuaries: patterns, processes and implications for adult abundance ». *Journal of Fish Biology*, volume 69, numéro 4, pp. 1081-1101.
- SULLIVAN, M. C., WUENSCHERL, M., et ABLE, K. 2009. « Inter and intra-estuary variability in ingress, condition and settlement of the American eel *Anguilla rostrata*: implications for estimating and understanding recruitment ». *Journal of Fish Biology*, volume 74, numéro 9, pp. 1949-1969.
- SWEKA, J. A., EYLER, S., et MILLARD, M. J. 2014. « An egg-per-recruit model to evaluate the effects of upstream transport and downstream passage mortality of American eel in the Susquehanna River ». *North American Journal of Fisheries Management*, volume 34, numéro 4, pp. 764-773.
- TAGAWA, M., et HIRANO, T. 1987. « Presence of thyroxine in eggs and changes in its content during early development of chum salmon, *Oncorhynchus keta* ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 68, numéro 1, pp. 129-135.
- TESCH, F.-W. 1974. « Influence of geomagnetism and salinity on the directional choice of eels ». *Helgoländer Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen*, volume 26, numéro 3, pp. 382-395.
- TESCH, F.-W. 2003. The eel. 3^e édition. Oxford, UK : Blackwell Science Ltd. 408 p.
- THIBAUT, I., DODSON, J. J., CARON, F., TZENG, W.-N., IIZUKA, Y., et SHIAO, J.-C. 2007. « Facultative catadromy in American eels: testing the conditional strategy hypothesis ». *Marine Ecology Progress Series*, volume 344, pp. 219-229.
- THIERAULT, V. 2001. « Anadromie et résidence chez l'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) : présence d'une stratégie conditionnelle basée sur la croissance ? ». Mémoire de maîtrise en biologie, Québec : Faculté des sciences et de génie de l'Université Laval, 49 p.
- THOMAS, F., LEFEVRE, T., et RAYMOND, M. 2010. Biologie évolutive. Bruxelles, Belgique : De Boeck Supérieur. 840 p.
- TOCHER, D. R., et SARGENT, J. R. 1984. « Studies on triacylglycerol, wax ester and sterol ester hydrolases in intestinal caeca of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed diets rich in triacylglycerols and wax esters ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, volume 77, numéro 3, pp. 561-571.

- TOMIE, J. P. N., CAIRNS, D. K., HOBBS, R. S., DESJARDINS, M., FLETCHER, G. L., et COURTENAY, S. C. 2016. « American eel (*Anguilla rostrata*) substrate selection for daytime refuge and winter thermal sanctuary ». *Marine and Freshwater Research*, DOI: 10.1071/MF1502.
- TSUKAMOTO, K., NAKAI, I., et TESCH, W.-V. 1998. « Do all freshwater eels migrate? ». *Nature*, volume 396, numéro 6712, pp. 635-636.
- TSUKAMOTO, K., et ARAI, T. 2001. « Facultative catadromy of the eel *Anguilla japonica* between freshwater and seawater habitats ». *Marine ecology Progress series*, volume 220, pp. 265-276.
- TSUKAMOTO, K., CHOW, S., OTAKE, T., KUROGI, H., MOCHIOKA, N., MILLER, M. J., AOYAMA, J., KIMURA, S., WATANABE, S., et YOSHINAGA, T. 2011. « Oceanic spawning ecology of freshwater eels in the western North Pacific ». *Nature Communications*, volume 2, numéro 179, pp. 2-9.
- TURESSON, G. 1922. « The genotypical response of the plant species to the habitat ». *Hereditas*, volume 3, numéro 3, pp. 211-350.
- TZENG, W.-N., IIZUKA, Y., SHIAO, J.-C., YAMADA, Y., et OKA, H. P. 2003. « Identification and growth rates comparison of divergent migratory contingents of Japanese eel (*Anguilla japonica*) ». *Aquaculture*, volume 216, numéro 1, pp. 77-86.
- UNESCO. 2016. « La communauté scientifique propose des recommandations pour l'intégration de l'océan et des côtes dans l'accord de la COP21 ». Dans *Service de Presse* En ligne. < http://www.unesco.org/new/fr/media-services/single-view/news/scientific_community_proposes_recommendations_for_integration_of_ocean_and_coasts_in_cop21_agreement/ - .V45GSZOLQ0o>. Consulté le 5 février 2016.
- VAN TIENDEREN, P. H. 1991. « Evolution of generalists and specialist in spatially heterogeneous environments ». *Evolution*, volume 45, numéro 6, pp. 1317-1331.
- VAN WAARDE, A., VAN DEN THILLART, G., et KESBEKE, F. 1983. « Anaerobic energy metabolism of the European eel, *Anguilla anguilla* L ». *Journal of comparative physiology*, volume 149, numéro 4, pp. 469-475.

- VÉLEZ-ESPINO, L., et KOOPS, M. 2010. « A synthesis of the ecological processes influencing variation in life history and movement patterns of American eel: towards a global assessment ». *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, volume 20, numéro 2, pp. 163-186.
- VIA, S. 1993. « Adaptive phenotypic plasticity: target or by-product of selection in a variable environment? ». *The American Naturalist*, volume 142, numéro 2, pp. 352-365.
- VIA, S., et LANDE, R. 1985. « Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity ». *Evolution*, volume 39, numéro 3, pp. 505-522.
- VIA, S., GOMULKIEWICZ, R., DE JONG, G., SCHEINER, S. M., SCHLICHTING, C. D., ET VAN TIENDEREN, P. H. 1995. « Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy ». *Trends in Ecology & Evolution*, volume 10, numéro 5, pp. 212-217.
- VØLLESTAD, L. A. 1992. « Geographic variation in age and length at metamorphosis of maturing European eel: environmental effects and phenotypic plasticity ». *Journal of Animal Ecology*, volume 61, numéro 1, pp. 41-48.
- WANG, C. H., et TZENG, W.-N. 2000. « The timing of metamorphosis and growth rates of American and European eel leptocephali: A mechanism of larval segregative migration ». *Fisheries Research*, volume 46, numéro 1-3, pp. 191-205.
- WANG, F.-Y., FU, W.-C., WANG, I.-L., YAN, H. Y., et WANG, T.-Y. 2014. « The giant mottled eel, *Anguilla marmorata*, uses blue-shifted rod photoreceptors during upstream migration ». *PloS One*, volume 9, numéro 8, pp. e103953.
- WEST-EBERHARD, M. J. 2003. *Developmental plasticity and evolution*. Oxford, Canada : Oxford University Press. 816 p.
- WESTERBERG, H., et SJÖBERG, N. 2015. « Overwintering dormancy behaviour of the European eel (*Anguilla anguilla* L.) in a large lake ». *Ecology of Freshwater Fish*, volume 24, numéro 4, pp. 532-543.
- WILLIAM, K. F., AU, D. W., et WONG, C. K. 2007. « Effect of osmotic shrinkage and hormones on the expression of Na⁺/H⁺ exchanger-1, Na⁺/K⁺/2Cl⁻ cotransporter and Na⁺/K⁺-ATPase in gill pavement cells of freshwater adapted Japanese eel, *Anguilla japonica* ». *Journal of Experimental Biology*, volume 210, numéro 12, pp. 2113-2120.

- WILLIAMS, G. C. 1966. « Adaptation and Natural Selection ». Princeton, UK : Princeton University Press. 307p.
- WILLMER, P., STONE, G., et JOHNSTON, I. A. 2005. Environmental physiology of animals. 2^e Édition. Malden, USA : Blackwell. 754 p.
- WILLSON, M. F., et HALUPKA, K. C. 1995. « Anadromous fish as keystone species in vertebrate communities ». *Conservation Biology*, volume 9, numéro 3, pp. 489-497.
- WILSON, J. M., ANTUNES, J. C., BOUÇA, P. D., et COIMBRA, J. 2004. « Osmoregulatory plasticity of the glass eel of *Anguilla anguilla*: freshwater entry and changes in branchial ion-transport protein expression ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 61, numéro 3, pp. 432-442.
- WIPPELHAUSER, G. S., et MCCLEAVE, J. D. 1987. « Precision of behavior of migrating juvenile American eels (*Anguilla rostrata*) utilizing selective tidal stream transport ». *Journal du Conseil: ICES Journal of Marine Science*, volume 44, numéro 1, pp. 80-89.
- WIPPELHAUSER, G. S., et MCCLEAVE, J. D. 1988. « Rhythmic activity of migrating juvenile American eels *Anguilla rostrata* ». *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, volume 68, numéro 1, pp. 81-91.
- WIRTH, T., et BERNATCHEZ, L. 2003. « Decline of North Atlantic eels : a fatal synergy ». *The royal Society*, volume 270, numéro 1516, pp. 681-688.
- WITTMER, H. U., MCLELLAN, B. N., SEIP, D. R., YOUNG, J. A., KINLEY, T. A., WATTS, G. S., et HAMILTON, D. 2005. « Population dynamics of the endangered mountain ecotype of woodland caribou (*Rangifer tarandus caribou*) in British Columbia, Canada ». *Canadian Journal of Zoology*, volume 83, numéro 3, pp. 407-418.
- WU, L.-Q., et DICKMAN, J. D. 2012. « Neural correlates of a magnetic sense ». *Science*, volume 336, numéro 6084, pp. 1054-1057.
- ZHAOQUN, S., RONG, W., YUGUI, Z., MUHAMMAD, T. K., et MUHAMMAD, M. 2015. « Analysis on global eel aquaculture conditions ». *International Journal of Marine Science*, volume 5, numéro 17, pp. 1-4.

ZINSER, E. R., COE, A., JOHNSON, Z. I., MARTINY, A. C., FULLER, N. J., SCANLAN, D. J., et CHISHOLM, S. W. 2006. « *Prochlorococcus* ecotype abundances in the North Atlantic Ocean as revealed by an improved quantitative PCR method ». *Applied and Environmental Microbiology*, volume 72, numéro 1, pp. 723-732.

