

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

PERFORMANCE ET CAPACITÉ MÉTABOLIQUE DES
SPERMATOZOÏDES ASSOCIÉES AUX DIFFÉRENTES TACTIQUES DE
REPRODUCTION CHEZ L'ÉPINOCHÉ À TROIS ÉPINES
(*GASTEROSTEUS ACULEATUS*)

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ À
UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI

Comme exigence partielle du programme de
Gestion de la Faune et de ses Habitats

PAR

Jonathan Côté

Décembre 2004

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.

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES.....	II
LISTE DES TABLEAUX	V
LISTE DES FIGURES.....	VI
RÉSUMÉ.....	VIII
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
STRATÉGIE ET TACTIQUES DE REPRODUCTION	1
COÛT DE LA REPRODUCTION.....	1
DIFFÉRENTES TACTIQUES DE REPRODUCTION	2
COMPÉTITION SPERMATIQUE	2
VOIE D'AMÉLIORATION DU POTENTIEL REPRODUCTEUR	3
COMPROMIS ENTRE LES CARACTÉRISTIQUES DES SPERMATOZOÏDES	4
MODEL « SNEAK-GUARD »	4
EXEMPLES DE LA COMPÉTITION SPERMATIQUE.....	5
SPERMATOZOÏDE.....	6
MÉTABOLISME DES SPERMATOZOÏDES	7
L'ÉPINOCHÉ, UN BON MODÈLE.....	7
L'ÉVALUATION DU COMPORTEMENT REPRODUCTEUR CHEZ L'ÉPINOCHÉ.....	9
OBJECTIFS SPÉCIFIQUES	11
ARTICLE.....	16
ABSTRACT	17
INTRODUCTION	18

METHODS.....	21
FISH SAMPLING.....	21
ASSESSMENT OF TERRITORIALITY	22
MORPHOLOGICAL MEASUREMENTS	23
SPERM MOTILITY MEASUREMENTS	24
SPERM METABOLISM ANALYSES	27
STATISTICAL ANALYSIS	28
RESULTS.....	29
TERRITORIALITY ASSESSMENT.....	29
MATING TACTIC DISCRIMINATION	30
TERRITORIAL SPERMATIC INDEX.....	31
SPERM LONGEVITY	31
SPERM METABOLISM	32
DISCUSSION.....	33
SPERM MOTILITY AND LONGEVITY.....	33
SPERM PRODUCTION	34
SPERM DURATION.....	35
INTERACTIONS BETWEEN SPERM TRAITS	36
REPRODUCTIVE TACTIC DETERMINATION	37
SPERM METABOLISM	37
COMPUTER-ASSISTED SPERM PRODUCTION.....	40
CONCLUSION	40
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	46
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	47

BIBLIOGRAPHIE 50

LISTE DES TABLEAUX

TABLE 1. Morphologic, spermatic and physiological characteristics for non-territorial (NTM, $n=44$), facultative-territorial (TFM, $n=38$) and territorial (TM, $n=31$) males three-spined stickleback. Values are presented as means and standard deviations.44

LISTE DES FIGURES

FIG. 1. Discriminant function analysis of the three different reproductive tactics (NTM = non-territorial males, $n=30$; FTM= facultative-territorial males, $n=20$; and TM = territorial males, $n=19$) based on 10 out of 30 parameters available (Wilks' lambda = 0.452, $P<0.001$). Parameters: ALH = lateral amplitude, BCF = beat frequency, STR = straightness, RAP = rapid percentage, SCPG = sperm concentration per gram of gonad, RLVAP = lost of path velocity, LF = total length, GSI = gonado-somatic index, COL = fish coloration, and CS = CS activity in sperm.42

FIG. 2. Relationship between condition index and gonado-somatic index for each male stickleback ($r=0.398$, $P<0.001$, $n=113$). Non-territorial males (NTM, $r=0.579$, $P<0.001$, $n=44$) are shown with *open squares*, facultative-territorial males (FTM, $r=0.261$, $P=NS$, $n=38$) with *grey triangles* and territorial males (TM, $r=0.085$, $P=NS$, $n=31$) with *close squares*.43

FIG. 3. Mean (\pm SD) of **A** sperm path velocity (VAP), **B** percentage of motile sperm (MOT) and **C** percentage of rapid sperm (RAP) at different time post activation for territorial males and non territorial males. Between tactics, the rate lost of sperm velocity is nearly significant (RLVAP, $F_{1,54}=3.5$, $P=0.067$, NTM > TM), non significant for the rate lost of the percentage of motile sperm (RLMOT, $F_{1,54}=1.3$, $P=0.256$) and significant for the rate lost of the percentage of rapid sperm (RLRAP, $F_{1,38}=7.5$, $P=0.009$, NTM > TM). FIG. 4. Relationship between spermatic enzyme activity and **A** total sperm number (TOTSPERM: PK; $r= -0.732$, $P<0.001$, and CS; $r=$

-0.687, $P < 0.001$), and **B** sperm concentration per gram of gonad (SCPG: PK; $r = -0.707$, $P < 0.001$, and CS; $r = -0.740$, $P < 0.001$), **C** and gonado-somatic index (GSI: PK; $r = -0.476$, $P < 0.001$, and CS; $r_s = -0.332$, $P < 0.01$). PK activity in sperm ($n=77$) are shown with *close squares* and CS activity in sperm ($n=80$) with *open squares* for each three-spined stickleback male.....45

FIG. 4. Relationship between spermatic enzyme activity and **A** total sperm number (TOTSPERM: PK; $r = -0.732$, $P < 0.001$, and CS; $r = -0.687$, $P < 0.001$), and **B** sperm concentration per gram of gonad (SCPG: PK; $r = -0.707$, $P < 0.001$, and CS; $r = -0.740$, $P < 0.001$), **C** and gonado-somatic index (GSI: PK; $r = -0.476$, $P < 0.001$, and CS; $r_s = -0.332$, $P < 0.01$). PK activity in sperm ($n=77$) are shown with *close squares* and CS activity in sperm ($n=80$) with *open squares* for each three-spined stickleback male...46

Résumé

Différentes tactiques de reproduction peuvent coexister au sein d'une même espèce. L'Épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*) est un exemple type de ce phénomène. Lors de la reproduction, certains mâles manifestent des comportements de territorialité (MT) qui favorisent leur chance d'être choisis par les femelles, alors que d'autres n'exhibent pas ces traits comportementaux (MNT) et optent pour des tactiques de reproduction furtives. Cette stratégie de reproduction induit une dépense énergétique qui diffère d'une tactique à l'autre. Afin de connaître l'impact des forces sélectives de la sélection sexuelle et de la compétition spermatique sur les caractéristiques des spermatozoïdes de chacune des tactiques, différents paramètres ont été mesurés sur le sperme de 120 individus (motilité, vitesse, longévité, production relative et capacité métabolique). Le comportement des mâles a été évalué par groupe de 10 individus disposés dans des petits bassins spécialement aménagés. Le statut de territorialité a été attribué aux mâles ayant construit un nid. Les mâles des différents bassins ont été re-mélangés une seconde fois afin d'évaluer la récurrence du statut de territorialité. Un nouveau statut, mâle à territorialité facultative (MTF), a pu ainsi être attribué aux mâles n'ayant pas adopté la même tactique lors des deux évaluations. Une analyse discriminante a permis de différencier significativement chacune des tactiques et de démontrer que l'indice gonadosomatique (plus élevé chez les MT) était le paramètre le plus discriminant. Cette analyse a également présenté les MTF comme étant un groupe intermédiaire entre les MT et les MNT. Aucune différence significative n'a été trouvée sur des caractéristiques spermatiques favorisant le potentiel reproducteur des mâles non territoriaux. Suivant les concepts de la compétition spermatique, la sélection aurait dû moduler, par exemple, une vitesse de nage des spermatozoïdes et une production relative en spermatozoïdes avantageuses pour les individus à reproduction furtive. En moyenne, le sperme est resté actif au-delà de 20 heures en perdant 30% de sa vitesse initiale et 50% du pourcentage de spermatozoïdes motile. L'absence de relation entre la performance des spermatozoïdes et l'activité enzymatique de la citrate synthase et celle négative avec la pyruvate kynase suggèrent que l'activité aérobie et la capacité glycolytique sont deux voies métaboliques qui ne sont pas associées à une meilleure vitesse et motilité du sperme de cette espèce. D'autre part, les résultats obtenus avec l'indice de territorialité, basé sur plusieurs caractéristiques spermatiques, semblent démontrer que l'interaction entre différents paramètres est peut-être plus importante que l'effet d'un seul paramètre. Ces interactions pourraient de ce fait intervenir comme facteur venant aider le maintien des tactiques alternatives qui ont un succès de reproduction inférieur à celui des mâles territoriaux.

Introduction générale

Stratégie et tactiques de reproduction

Diverses pressions de sélection sont responsables de l'apparition et du maintien de plusieurs comportements de reproduction au sein d'une même espèce ou d'une population (Birkhead and Moller, 1998). La stratégie de reproduction regroupe l'ensemble de ces phénotypes alternatifs (tactiques de reproduction) et chaque individu possède le bagage génétique pour exprimer les différentes tactiques (Gross and Repka, 1998). Chaque tactique possède des caractéristiques comportementales, morphologiques et autres composantes qui leur sont propres et chaque mâle adopte une seule d'entre elles dans le but d'avoir le meilleur succès reproducteur possible. Par cette tactique, il tente d'optimiser le nombre ou la qualité de ses partenaires. Les principales variables qui déterminent la tactique de reproduction touchent la condition de l'individu, l'intensité de la compétition intra-sexuelle, la densité de la population locale, la séquence de résidence et les conditions environnementales (telle la prédation). Ces différentes variables caractérisent en partie le coût qui sera associé à la reproduction (Taborsky, 2001).

Coût de la reproduction

Il est reconnu que la reproduction représente un investissement énergétique très important (Chellappa et al., 1989; Jobling, 1994). Même la production des spermatozoïdes constitue à elle seule une dépense substantielle (Jobling, 1994; Scharer and Robertson,

1999; Wedell et al., 2002). Ainsi, considérant l'ampleur du coût associé à la reproduction et à la disponibilité des ressources énergétiques qui peut être limitante, beaucoup de compromis sont réalisables en terme d'investissement énergétique et de tactiques à adopter.

Différentes tactiques de reproduction

La sélection des mâles par les femelles lors de la reproduction a pour effet d'accentuer la compétition entre ces derniers. Afin d'avoir accès à plus de fertilisations que ses rivaux, un mâle peut adopter quatre tactiques différentes (Taborsky, 2001): 1- être plus rapide, 2- monopoliser les ressources (aire de reproduction, d'élevage et matériaux de nidification) et les femelles, 3- exploiter la monopolisation des ressources et des femelles des autres (parasitisme reproductif) et 4- faire de la coopération avec des monopolisateurs de ressources. Dans les cas où la force décide du vainqueur, les individus les plus gros et en meilleure condition auront l'avantage pour bénéficier des ressources, d'un territoire et des partenaires. Toutefois, la compétition entre les mâles peut se jouer à un tout autre niveau que celui de la force.

Compétition spermatique

La compétition spermatique survient lorsque le sperme de plus d'un mâle entre en compétition pour fertiliser les œufs d'une femelle (Parker, 1970). Ce phénomène est commun lorsque la fertilisation est externe et que les femelles ont très peu de contrôle sur la paternité. Elle permet donc à des individus, qui ont moins de chance de bénéficier de ressources et d'un accès plus facile aux femelles, en raison de leur condition ou d'autres

facteurs environnementaux (mâles satellites), d'améliorer leur succès de reproduction (Leach and Montgomerie, 2000).

Voie d'amélioration du potentiel reproducteur

Le potentiel reproducteur peut être amélioré de différentes façons au niveau gamétique (Leach and Montgomerie, 2000). 1- La rapidité des spermatozoïdes favorise le potentiel reproducteur lorsque le sperme doit franchir une certaine distance pour fertiliser les œufs. La vitesse des spermatozoïdes peut être influencée tant par la capacité métabolique qui fournit l'énergie nécessaire que par leur longueur. En effet, la longueur du flagelle peut influencer les forces propulsives suffisamment pour en faciliter le déplacement (Balshine et al., 2001). 2- La vitalité du sperme peut être caractérisée par la proportion de spermatozoïdes qui est viable et par l'endurance de ces derniers. Plus la proportion de spermatozoïdes viables sera grande et plus ils seront durables, plus le nombre d'œufs fécondés pourra être grand pour un volume d'éjaculat donné. 3- En ayant un plus grand nombre total de spermatozoïdes, un individu peut relâcher de plus gros ejaculats lors d'un événement de reproduction ou encore en relâcher un plus grand nombre au cours de la saison de reproduction. 4- Toutefois, si l'espace d'emmagasinage du sperme est limité ou que le volume de l'éjaculat reste relativement fixe, la concentration du sperme en spermatozoïdes devient un paramètre très important. Dans ce cas, un plus petit volume de sperme est nécessaire pour obtenir une quantité totale de spermatozoïdes donnés.

Compromis entre les caractéristiques des spermatozoïdes

Toutes ces caractéristiques peuvent être avantageuses au niveau du potentiel reproducteur. Toutefois, elles ne peuvent pas toutes être optimisées à la fois. Un compromis doit être fait lors de la production des spermatozoïdes en raison de l'investissement énergétique que nécessite la production des gamètes. Par exemple, des spermatozoïdes longs ont l'avantage d'être plus rapides, mais leur longueur peut être inversement corrélés à leur longévité (Stockley et al., 1997). La vitesse peut être avantageuse pour arriver le premier à fertiliser les œufs, mais la longévité peut être également un très bon atout. Surtout lorsque la distance à parcourir n'est pas fixe comme dans le cas de la fertilisation externe (Taborsky, 1998).

Model « Sneak–Guard »

Différents modèles théoriques présentent les différentes stratégies de reproduction. Un des modèles les plus répandus est celui décrit par Parker et ses collègues (Parker, 1990; Parker, 1998; Parker et al., 1997); le « Sneak and Guard model ». Ce modèle présente deux tactiques de reproduction dans lesquelles les « Sneakers » sont des mâles dont le comportement de reproduction est dit furtif et les « Guardians » dont le comportement est dit gardien. La tactique des mâles gardiens implique la défense d'un territoire qui servira à l'accouplement. C'est généralement les individus en meilleure condition et les plus gros. Ils cherchent également à monopoliser les femelles. Quant aux mâles furtifs, ils sont généralement plus petits et plus jeunes. Par faufileage opportuniste ou en restant près des

sites de reproduction grâce à leur apparence de femelle, ils tentent de voler des fertilisations à des mâles gardiens qui se reproduisent.

Le risque et l'intensité de la compétition spermatique vont jouer un rôle très important sur l'évolution des caractéristiques spermatiques d'une population (Parker, 1998). Le risque est défini comme la probabilité moyenne qu'une femelle puisse rencontrer un autre mâle pour se reproduire. Quant à l'intensité, elle représente le nombre moyen de mâles qui peuvent entrer en compétition pour un amas d'œufs donné ou le nombre d'éjaculats avec lequel un mâle devra rivaliser. Ainsi, plus ces deux composantes du système sont importantes, plus les pressions de sélection sont grandes. Ce qui résulte dans le développement de différences au niveau gamétique entre les différents phénotypes comportementaux (Simmons and Kotiaho, 2002). Des variations des caractéristiques spermatiques devraient donc être associées aux différentes tactiques de reproduction lorsqu'elles suivent des modifications du niveau de risque ou de l'intensité de la compétition spermatique.

Exemples de la compétition spermatique

Différents exemples illustrent bien comment la compétition spermatique peut arriver à moduler certains paramètres de la reproduction. Chez une espèce d'oiseau, *Riparia riparia*, lorsqu'un mâle se reproduit en présence d'un autre mâle (un rival), ce dernier va laisser plus de semence que lors d'une fertilisation sans rival (Nicholls et al., 2001). L'épinoche à trois épines, *Gasterosteus aculeatus*, présente également le même phénomène (Zbinden et

al., 2004). Chez *Viviparus ater*, une espèce de gastéropode, il a été démontré que plus les spermatozoïdes étaient gros, meilleur était le succès de fertilisation pendant la compétition spermatique (Oppliger et al., 2003). De plus, ils ont montré qu'une plus grande concentration du sperme était favorable pour faire face à la compétition spermatique. Une étude portant sur des espèces de cichlidés (espèces à fertilisation externe) a montré que la polygamie était corrélée à la compétition spermatique (Balshine et al., 2001). Les espèces les plus polygames posséderaient des spermatozoïdes plus longs que leurs plus proches parents monogames. Ainsi, la grandeur des spermatozoïdes pourrait par le fait même être reliée à la compétition spermatique. Chez une autre espèce de poisson, le Crapet arlequin (*Lepomis macrochirus*), les mâles furtifs ont une semence qui est presque 50% fois plus concentrée (Leach and Montgomerie, 2000).

Spermatozoïde

La motilité des spermatozoïdes est cruciale pour la fertilisation et particulièrement lorsqu'une certaine distance doit être franchie pour rejoindre les oeufs. Le flagelle du spermatozoïde est la pièce mécanique qui permet au spermatozoïde de se propulser. Cette pièce, particulièrement complexe, est principalement composée de l'axonème. Il est formé d'un complexe de microtubules qui sont articulés autour du centriole, la pièce qui permet la jonction entre la tête et la queue. Ainsi, l'énergie qui est transmise à ce complexe peut générer le mouvement propulseur du spermatozoïde. Cette énergie est principalement issue des mitochondries qui sont situées au niveau de la pièce intermédiaire du spermatozoïde (Gilbert, 1996).

Métabolisme des spermatozoïdes

Des études récentes (Gronczewska et al., 2003; Lahnsteiner et al., 1999) ont permis d'identifier les principales voies métaboliques chez quelques espèces de téléostéens. La voie qui semble la plus sollicitée est la glycolyse aérobie. Mansour et al. (2003) suggèrent toutefois que l'importance des différentes voies du métabolisme énergétique des spermatozoïdes de poisson varie selon les espèces. La motilité des spermatozoïdes peut être affectée par une altération du système mécanique locomoteur, des membranes des mitochondries, ainsi que par une altération chimique affectant les processus enzymatiques (O'Connell et al., 2002).

La capacité métabolique des spermatozoïdes devrait donc traduire de façon juste la performance de ceux-ci. Le développement et la maturation des spermatozoïdes sont également très importants pour que tous les processus physiologiques et métaboliques se mettent correctement en place. Ainsi, encore une fois l'allocation en énergie doit être bien acheminée au cours de la production des spermatozoïdes, et ce, jusqu'à la toute fin pour veiller à ce que leur qualité soit adéquate.

L'épinoche, un bon modèle

L'épinoche à trois épines constitue un excellent modèle pour l'étude des stratégies de reproduction. Ce petit téléostéen, de la famille des Gastérostéidés, a été fort étudié au cours des 20 dernières années. Plusieurs équipes de chercheurs se sont non seulement penchées

sur leurs comportements reproducteurs particuliers (Blouw, 1996; Bronseth and Folstad, 1997; Dufresne et al., 1990; Fitzgerald, 1983; Ridgway and McPhail, 1988), mais également sur leur diversification (Kraak et al., 2001; Kristjansson et al., 2002; Taylor and McPhail, 1999). Ainsi, une somme importante d'information est aujourd'hui disponible sur la biologie, l'écologie et l'évolution de cette espèce.

La stratégie de reproduction des épinoches se rapproche fortement du modèle de Parker et collaborateurs puisqu'elle renferme deux tactiques de reproduction similaires. Ainsi, les mâles gardiens vont établir et protéger agressivement un territoire (mâles territoriaux). Ils construisent également un nid avec des algues afin que les femelles viennent y laisser leurs œufs suite à des efforts de séduction. Ces mâles offriront des soins parentaux jusqu'à ce que les jeunes atteignent le stade d'alevin. Ils adoptent également une forte coloration rouge au niveau de la gorge et bleue au niveau des yeux. Quant aux mâles furtifs (mâles non territoriaux), ils vont errer près du nid d'un mâle gardien et relâcher leur semence de façon furtive.

Un des grands avantages à travailler avec cette espèce est la facilité avec laquelle elle se reproduit en laboratoire. De plus, leurs spermatozoïdes restent actifs pendant plusieurs heures (Elofsson et al., 2003a; Elofsson et al., 2003b), ce qui facilite les manipulations et la prise de mesures sur la cinématique des spermatozoïdes.

La population étudiée est anadrôme et se reproduit dans les marelles du marais salé de l'Île Verte (située dans la réserve faunique nationale de la Baie de l'Île Verte à près de 200 km à l'est de la ville de Québec, Canada). En se reproduisant dans ce système de marelles (petits étangs remplis par les hautes marées printanières), les individus se retrouvent confinés par petits groupes isolés les uns des autres. Malgré ce petit nombre, les individus d'une marelle se trouvent en contact avec leurs rivaux, et ce, dans un espace restreint. Cet espace limité favorise les interactions et la compétition entre les mâles.

L'évaluation du comportement reproducteur chez l'épinoche

La plupart des études sur les tactiques de reproduction des épinoches n'évaluent ce comportement qu'une fois et le jugent généralement fixe et stable chez chaque individu. Dans certaines études, la détermination de la tactique de reproduction est effectuée par l'observation d'un mâle isolé ou d'un mâle confronté à une femelle ou encore à un seul autre mâle pour déterminer si le mâle est territorial ou non (Barber and Arnott, 2000; Barber et al., 2000; Whoriskey, 1991). Un individu isolé devient plus facilement territorial qu'un individu qui doit faire face à plusieurs mâles lors de la construction de son nid et la défense de son territoire en milieu naturel. Ainsi, bien des mâles pourraient être territoriaux dans une situation isolée en laboratoire et ne pas l'être en milieu naturel. L'étude de ces comportements et la détermination de critères fiables discriminant les deux comportements reproducteurs deviennent donc plus difficile. Par exemple, FitzGerald et Kedney (1987) ne sont pas arrivés à mettre en relation l'agressivité, l'aptitude au combat et la capacité à

obtenir un territoire. Ils expliquent leur insuccès par la difficulté à quantifier ces comportements.

D'autres études ont fait l'évaluation des comportements reproducteurs en laboratoire par petits groupes d'individus (Cubillos and Guderley, 2000; Dufresne et al., 1990), ou l'ont observé en milieu naturel (Guderley and Guevara, 1998; Largiader et al., 2001). Cette approche est plus réaliste, mais ne représente qu'un événement ponctuel qui pourrait être modulé par d'autres facteurs.

Bien que plusieurs études se soient questionnées sur le comportement reproducteur de cette espèce, à notre connaissance, aucune étude ne semble s'être interrogée sur la récurrence de la tactique adoptée par un individu. Pour savoir si les individus sont strictement territoriaux ou non territoriaux, chacun des individus devrait être soumis à différents groupes sociaux. Ainsi, si le comportement reproducteur est conditionnel à l'environnement social, certains individus ne devraient pas conserver la même tactique de reproduction dans les différents groupes sociaux rencontrés.

En étudiant la récurrence de la tactique adoptée par un individu, plusieurs éléments doivent être pris en considération. En essayant de provoquer à plusieurs reprises un cycle de reproduction, il serait difficile d'évaluer ou de quantifier l'effort qui serait associé d'un cycle à l'autre. Il serait également difficile de comparer l'investissement des individus qui auraient obtenu des œufs de ceux qui n'en auraient pas eu. En plus, parmi ceux ayant

obtenu des œufs, il serait difficile d'identifier ceux qui pourraient avoir mangé de leurs œufs, ce qui constitue une excellente source alimentaire.

Objectifs spécifiques

1- Déterminer si les mâles gardiens, malgré un investissement énergétique substantiel dans les caractères sexuels secondaires (construction d'un nid, défense d'un territoire, efforts de séduction, coloration nuptiale, soins parentaux), ont une semence d'aussi bonne qualité que les mâles furtifs qui n'investissent pas dans ces caractères.

Dans la population à l'étude, la reproduction s'effectue dans une eau généralement stagnante. La motilité des spermatozoïdes prend ainsi une place extrêmement importante (Balshine et al., 2001). Au niveau de l'investissement énergétique associé à la reproduction, les mâles territoriaux sembleraient investir davantage d'énergie dans les caractères sexuels secondaires que les non territoriaux. Ainsi, par l'énergie non investie dans les traits sexuels secondaires, les mâles non territoriaux pourraient investir plus d'énergie dans la spermatogenèse. La qualité de leurs gamètes pourrait être un moyen pour eux de compenser leur faible accessibilité aux femelles. La stratégie de reproduction de l'épinoche mène donc les mâles non territoriaux à toujours faire face à la compétition spermatique, alors que les mâles territoriaux n'auront pas nécessairement à y faire face.

Plus l'intensité de la compétition spermatique est forte, plus les forces sélectives favorisent le développement de différences au niveau des caractéristiques spermatiques

entre les stratégies de reproduction (Balshine et al., 2001; Leach and Montgomerie, 2000; Simmons and Kotiaho, 2002). Il a également été reporté qu'il y avait une importante variation des paramètres spermatiques lié à une forte et rapide diversité de la morphologie et du comportement des spermatozoïdes, et ce, tant à l'échelle inter- qu'intraspécifique (Snook, 2005). Pourtant, peu d'adaptations au niveau de l'éjaculat et des spermatozoïdes sont connues pour les mâles gardiens et elles sont surtout connues chez les salmonidés (Taborsky, 1998). Les différences les plus observées ne concernent que l'éjaculat et l'investissement dans les gonades, alors que plusieurs paramètres de la compétition spermatique peuvent être déterminants. En effet, d'autres caractéristiques des spermatozoïdes, telle que la vitesse de nage, la viabilité et l'endurance des spermatozoïdes, peuvent être très importantes lors de la fertilisation et varier selon les espèces (Snook, 2005) ou encore selon les tactiques.

Hypothèse :

La quantité d'énergie pour la reproduction étant limitée, les mâles furtifs qui n'investissent pas autant que les mâles territoriaux dans les caractéristiques sexuelles secondaires auront plus d'énergie à investir au niveau de leurs gamètes (cinématique des spermatozoïdes, indice gonado-somatique, concentration du sperme et nombre total de spermatozoïdes).

Prédiction :

Les mâles furtifs posséderont des caractéristiques spermatiques favorisant leur potentiel reproducteur face à celles que possèdent les mâles territoriaux.

2- Évaluer dans quelle mesure la capacité métabolique des spermatozoïdes est corrélée avec leur motilité.

Les connaissances sur le métabolisme des spermatozoïdes des téléostéens sont principalement basées et limitées à quelques espèces de cyprinidés et de salmonidés (Gronczewska et al., 2003). Elles sont également orientées vers le suivi des paramètres des spermatozoïdes (motilité et viabilité) ou de marqueurs métaboliques (consommation en O₂, la production d'ATP, et la métabolisation de différents éléments phosphatés) suite à différentes modifications du milieu dans lequel ils évoluent (inhibiteurs métaboliques, des substrats, des coenzymes et en modifiant la concentration en oxygène) (Dreanno et al., 1999; Gronczewska et al., 2003; Lahnsteiner et al., 1999). Peu de mesures de la capacité métabolique des spermatozoïdes ont été réalisées chez les poissons.

À l'heure actuelle, peu de travaux ont utilisé l'activité enzymatique des spermatozoïdes comme indicateur de leur capacité métabolique (Ruiz-Pesini et al., 1998; Ruiz-Pesini et al., 2000). Ruiz-Pesini et al. (2000) ont trouvé que plus l'activité enzymatique mitochondriale au niveau des différents complexes de la respiration cellulaire était grande, meilleure était les caractéristiques spermatiques des hommes étudiés (motilité, viabilité et concentration du sperme). Dans une autre étude portant sur la Truie arc-en-ciel, il a été démontré que l'activité enzymatique spermatique de la malate déshydrogenase et de l'aspartate aminotransférase était relié à la capacité de fertilisation (Lahnsteiner et al.,

1998a). Un lien indirect peut donc être fait entre la motilité et l'activité enzymatique puisqu'ils ont également trouvé que la motilité des spermatozoïdes était aussi associée à la capacité de fertilisation.

Bien que les connaissances sur le métabolisme des spermatozoïdes permettent de décrire les différentes voies métaboliques, peu d'information sont disponible sur leur importance, leur efficacité et leur fonctionnement (Gronczewska et al., 2003; Lahnsteiner et al., 1999; Mansour et al., 2003). L'importance de la relation entre le métabolisme et la performance des spermatozoïdes reste donc à documenter et devient particulièrement intéressante dans un système où d'importantes forces sélectives (compétition spermatique et sélection sexuelle) sont présentes.

Hypothèse :

La performance des spermatozoïdes est limitée par leur potentiel énergétique estimé par l'activité enzymatique des différentes voies métaboliques.

Prédiction :

La capacité métabolique des spermatozoïdes devrait être positivement corrélée à la motilité des spermatozoïdes.

Ce projet vise une approche multidisciplinaire intégrant l'étude du comportement, de la physiologie et de l'évolution dans le but de répondre à des questions traitant du lien qui peut exister entre les capacités reproductrices d'un individu et la tactique de reproduction

que ce dernier adopte. Cette étude semble d'ailleurs être parmi les premières à se pencher à la fois sur les caractéristiques des spermatozoïdes et leur capacité métabolique en relation avec le concept de la compétition spermatiques, et ce, peu importe le genre animal. De plus, elle compte parmi les rares études à considérer l'importance du comportement reproducteur dans l'interprétation des différents traits spermatiques.

ARTICLE

Sperm traits and sperm metabolic capacity in three-spined stickleback males showing alternative mating tactics.

Côté, J., F. Dufresne and P.U. Blier

Département de Biologie, University du Québec à Rimouski, 300 allée des Ursulines, Rimouski, Québec, Canada G5L 3A1. Tél: (418) 723-1986 ext. 1612, Fax: (418) 724-1849

Corresponding author: Côté, J. (jonathan_cote@uqar.qc.ca)

Keywords: Three-spined stickleback, Sperm competition, Reproduction, Behaviour, Metabolism, CASA, *Gasterosteus aculeatus*.

Abstract

Male three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) show unequal energetic expenditure upon reproduction as some males become territorial (TM) and spawn singly with females whereas other males are non territorial (NTM) and attempt to steal fertilisations from territorial males. We examined the possible influence of sperm competition on various sperm parameters (motility, velocity, % rapid, production, longevity, and metabolic capacity) in 120 males showing alternative mating tactics. Territorial status was assessed by introducing groups of 10 males in small wading pools and recording the number of males with and without nests. Males from all four wading pools were remixed and territorial status was re-assessed. This allowed us to discriminate a group of males with a 'facultative' mating tactic *i.e.* those that had failed to nest the first time and that re-nested in the second trial and those that nested in the first trial but failed to nest in the second trial (FTM). A discriminant function analysis on 10 selected variables revealed significant differences among each tactic and showed that the gonado-somatic index (GSI) was globally the most discriminant variable and was associated with the TM tactic. Interestingly, FTM were an intermediate group between TM and NTM. No differences in sperm motility and velocity were found among males with alternative tactics. Sperm stayed active for more than 20 hours and lost about 30% of its initial velocity and 50% of motility. TM tended to lose more sperm velocity and a significantly higher percentage of rapid sperm over time than non territorial males. There were no differences in citrate synthase (CS) and pyruvate kinase (PK) activities among males with alternative mating tactics. Curiously, we found no relationship between sperm velocity and CS activity and an unpredicted significant negative relationship between sperm velocity and PK activity. This suggests that mitochondrial content may not be limiting for sperm motility and that endurance rather than high power performance (fast motility) is a key parameter of sperm physiology to optimize fertilization success in this species.

Introduction

Sperm competition, defined as sperm or ejaculate of more than one male competing for the fertilisation of a given set of ova (Parker, 1970; Parker, 1990), is recognized as being responsible for an important variation in sperm parameters (Snook, 2005). This variation can be described as a high and rapid diversity in sperm morphology and behaviour, both between and within species. Fish species with alternative reproductive tactics represent good models to examine the effects of selection on sperm parameters because the unequal somatic energetic expenditures associated with each tactic could translate into differential gonadal investment. As the intensity of sperm competition increase the selective forces of sperm competition should result in differences in sperm characteristics between tactics.

Sperm number is one of the most common traits found to be sensitive to sperm competition pressure (Parker, 1998), although it does not always translate into higher fertilization success (Simmons et al. 2003 in Snook 2005). The gonado-somatic index is assumed to represent a relative measure of sperm investment and is commonly found to be higher in sneaker than in territorial males (Taborsky, 1998). Even if sperm quantity is an important parameter in terms of fertilisation success, sneakers should invest more in sperm quality to raise their reproductive potential (Fu et al., 2001; Taborsky, 2001). Sperm quality can be defined as sperm swimming speed, sperm motility and longevity. For example, sperm velocity has been shown to be the primary determinant of fertilisation success in

Atlantic salmon (Gage et al., 2004). Empirical results on Atlantic salmon reveal that parr males invested more in sperm motility and sperm number than parental males relative to their body size (Vladic and Jarvi, 2001). In bluegill sunfish, sneakers had a 50% more concentrated sperm but a lower total sperm number compared to parental males (Leach and Montgomerie, 2000). Further investigations in this species have also shown that sneakers possessed faster initial sperm swimming speed (Burness et al., 2004). They also confirmed the existence of a trade-off between sperm motility and longevity with sneaker males having a shorter duration of sperm motility.

Energetic metabolism of spermatozooids should be tightly related to sperm performance since the metabolic apparatus is limited by the cellular volume available. Energetic pathways have been described in some studies (see Lahnsteiner et al., 1999) and used as an indicator of sperm quality (Gronczewska et al., 2003) but these studies have been performed on a limited number of teleost species (mostly cyprinids and salmonids). In the context of sperm competition, very few studies have examined sperm metabolism (but see Burness et al., 2004). In a research on the determination of sperm quality of rainbow trout, sperm metabolism parameters (malate dehydrogenase activity and aspartate aminotransferase activity) and sperm motility parameters (motility rate and total swimming velocity) have been related to fertilization success (Lahnsteiner et al., 1998a). Although many measurements on sperm metabolism have been performed, very few studies have directly correlated sperm enzymatic activity with sperm quality. Moreover, to our

knowledge only few studies on fish had directly linked the sperm performance to their metabolic capacity (Lahnsteiner et al., 1998a).

The three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) is an excellent model to examine the impact of natural selection on sperm characteristics. The reproductive behaviour of this teleost species has been intensively studied during the past 20 years (Blouw, 1996; Bronseth and Folstad, 1997; Dufresne et al., 1990; Fitzgerald, 1983; Ridgway and McPhail, 1988). The reproductive strategy of three-spined stickleback is similar to the Sneak-Guard model (Parker, 1970; Parker, 1990) but showed less differentiated phenotypes associated to each tactics compared to other model species. During the reproductive season, some males defend a territory, build a nest in which the female deposit her eggs, and provide parental care (TM). Other males are unable to defend a territory and attempt to steal TM fertilizations (Non-Territorial Males; NTM). Therefore the intensity of sperm competition should be lower for TM and higher for NTM since the latter always compete with TM but the TM will sometimes spawn singly with females. Reproduction likely represents a substantial energetic expenditure in TM considering sexual secondary traits and behaviours involved in reproduction (red coloration, aggressiveness fanning, courtship effort, territory defence, and nest construction). If the energy available for reproduction is limited, we expect a trade-off between somatic and gonadal investments. Hence, we predict that NTM will invest more in sperm quality and quantity than TM.

The principal objectives of this study were to determine 1) if male sticklebacks with alternate reproductive tactics possess sperm with different characteristics (motility and longevity) and 2) if sperm metabolic capacity is a significant determinant of sperm performance and how natural and sexual selection has modulated basic processes of sperm motility. The three-spined stickleback is unusual among fish species in that its sperm has been shown to last for over 10 hours (Elofsson et al., 2003a). Thus our study will be one of the first to examine the effects of selection on sperm traits and performance in a species with long-lasting sperm. It is also one of the first studies to look at sperm traits and enzyme activities with respect to sperm competition in any animal. In addition sperm traits and their interactions will be interpreted considering the reproductive constraints of each tactics.

Methods

Fish sampling

The sticklebacks were collected in the saltmarsh of the Baie de l'Isle-Verte National Wildlife Area, about 200 km northeast of Quebec City along the south shore of the St. Lawrence Estuary. This anadromous population spends most of the year in the estuary and migrates to small tidal pools following flooding of the marsh area at each high spring tide. Sampling took place on four occasions, from the end of May until the middle of July 2002, immediately following a high spring tide to ensure that the fish were newcomers to the marsh and had not yet spawned.

Fish were trapped by leaving small box traps overnight in various pools. They were sorted in the field and brought to the aquaculture station of the university and kept in continued circulation basins until the beginning of the experiments. They were fed periodically ad libitum with blood worms (Hikari).

We only selected males that showed some breeding colors (blue eyes and red throat) to avoid misidentification with non-gravid females. All males were identified by inserting small pieces of colored plastic wires on their dorsal and pelvic spines. The females were not tagged and were chosen only if they were gravid.

Assessment of territoriality

Forty males were selected at each period of the reproductive season; May 29th, June 16th and 28th, and July 19th 2002. We had to omit the fourth cohort from the middle of July as these males no longer built nests in the laboratory. Ten males of various sizes and coloration were each introduced into four plastic wading pools measuring 1.52m in diameter filled with water of similar salinity to water from tide pools. Sand, algae and rocks were added to the pools to mimic their natural environment. The light cycle was adjusted to 16 hours daylight and 8 hours of darkness and the water temperature was maintained at room temperature (25°C). Eight females were added in each of the four pools to stimulate the nesting behaviour of the males.

The nesting behaviour of the males was assessed 48 hours following the introduction since a previous study showed that no further territories were built after this time period (Dufresne et al., 1990). Males with nests were assigned territorial status (TM) and those without were assigned the non territorial status (NTM).

In order to better define the reproductive status of each male, we remixed the forty males and reintroduced them in new groups of ten males and reassessed their nesting behaviour. Females were not reintroduced the second time around. We re-assigned males according to three tactics: males that re-nested a second time were assigned the territorial male (TM) status, males that failed to re-nest were assigned the facultative territorial (FTM) status and those that failed to nest two times in a row or switch from non territorial to territorial males were assigned a non territorial male (NTM) status.

Morphological measurements

Prior to the re-nesting experiments, the intensity of red coloration (COL) was assessed independently by two evaluators on a scale of 1 (individual without red or blue coloration) to 5 (dark red that spread over the throat and bright blue eyes). The score was calculated by averaging the value obtained by the two evaluators.

The fish were sacrificed to obtain the sperm directly from their gonads as it was not possible to obtain sperm from rubbing their abdomens (Largiader et al., 2001; Elofsson et al., 2003a and 2003b; but see Defraipont et al., 1993). Length (LF), total wet mass and

gonad mass were measured. The condition index (CI) was estimated following Fulton's condition factor: total weight \times LF^{-3} . The gonado-somatic index (GSI) was calculated from: gonad mass / total mass. The age was estimated following Dufresne et al. (1990), with males measuring less than 6.5cm were aged 1+ and more than 6.5cm were aged 2+.

Sperm motility measurements

Fifteen to twenty-five microliters of sperm activation solution was pipetted on the gonads and these were crushed with fine capillaries to release as much sperm as possible. We didn't use an inactivating solution because the sperm of stickleback is already activated in the gonads in comparison to other species (Kime et al., 2001). Time of sperm post activation was then estimated from the moment when the sperm activating solution was added on the gonads and the sperm analysis was made as quickly as possible.

From the extracted volume of sperm, 3.5 μ l was diluted in five volumes for kinematics measurements and the remained volume was cryopreserved for further metabolic analysis. The sperm activation solution was quite similar to the Cold extender (4 °C) used in Lahnsteiner et al. (1998b) for salmonid fishes (NaCl 103mM, KCl 40mM, CaCl₂ 1mM, MgSO₄ 0.8mM, Hepes 20mM (pH 7.8), Sucrose 15mM, Methanol 10% and bovine serum albumine 1.5%) but without egg yolk.

Spermatozoa kinematics were determined using a cell Computer Assisted Sperm Analysis (CASA) system from Hamilton-Thorne Biosciences (CEROS 12.1). The settings

used to measure sperm motility were: 50 frames at 60Hz of acquisition rate; photometer, 50-55; minimum contrast, 30; minimum cell size, 2 pixels; static intensity gates, 0.17 min and 2.28 max; static size gates, 0.38 min and 3.00 max; static elongation gates, 38 min and 100 max; and magnification factor, 2.04. The microscope stage was cooled at $12\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ and the frosted slides were also cooled before the analyses.

The parameters recorded for each sample were:

path velocity (VAP as the average path velocity of sperm, $\mu\text{m/s}$); progressive velocity (VSL as the straight line distance from beginning to end of a sperm track divided by the time taken, $\mu\text{m/s}$); curvilinear velocity (VCL as a measure of the total distance traveled by a given sperm divided by the time elapsed, $\mu\text{m/s}$); lateral amplitude (ALH as the mean width of sperm head oscillation, μm); beat frequency (BCF as the frequency of the sperm head crossing the sperm average path, Hz); and straightness (STR as $\text{VSL/VAP} \times 100, \%$).

To describe sperm velocity distribution we considered that motile sperm had a path velocity higher than $7.4\mu\text{m/s}$. Slow cells were added to static category because some immobile cells moved with the drift into the analyzed fields. The percentage of motile sperm (MOT) has been split into two categories to create a class of really rapid sperm. Spermatozoids were attributed a rapid status (RAP) when their path velocity was higher than $40\mu\text{m/s}$ (swimming speed that a low percentage of spermatozoids were able to reach in preliminary analysis). The remained percentage of motile sperm ($40.0 < \text{VAP} < 7.4\mu\text{m/s}$) were considered as medium sperm (MED).

To estimate sperm kinematics, 10 fields per slide were arbitrary chosen to cover the extent of the slide. The average cell per frame was adjusted to be around 100 cells by doing further dilution if necessary, so an average of 1100 individual spermatozoa were tracked per individual.

Sperm longevity (index of sperm duration) was determined by lost of motility and velocity. Sperm analyses were performed at three different times (new slide at each time) for up to 24 hours and the semen was conserved at 4°C between each analysis. We could not set a fixed time period for all slides because of logistic constraints but they have been regrouped in three ranges of time (Time 1 0h15±0h10; Time 2 10h08±1h56; Time 3 20h23±1h49). Regression analyses allowed the measurements of the rate of lost on path velocity (RLVAP), rapid percentage (RLRAP) and motile percentage (RLMOT). These values were attributed to each individual.

An estimated total number of sperm (TOTSPERM) was calculated using sperm concentration as estimated from the spermogramm analysis multiplied by the sum of the mass of gonads expressed as a volume and the volume of sperm activation solution put on the gonads.

We also preferred to express sperm concentration per gram of gonad (SCPG) because we did not have a precise value for the total amount of sperm that the gonads contained.

Therefore we used the estimated total number of spermatozooids and the mass of the gonads to calculate the sperm concentration.

Sperm metabolism analyses

The extracted semen was diluted in three volumes of sperm activation solution and incubated for 15-20min on ice before freezing in liquid nitrogen. The samples were frozen in 2ml cryopreservation vials to allow a large air space between the sperm sample and the lid, (Waymann and Tiersch, 2000). After incubation, the samples were suspended between 1cm (-130°C) to 2cm (-100°C) above the level of liquid nitrogen for at least 10min before immersion. For thawing, the vials were left at room temperature for exactly 30sec before being put on ice (modified from Lahnsteiner et al., 1998b).

Enzyme activities were assayed using a UV/Vis spectrophotometer (Perkin Elmer, Lamda 11). The temperature of the cell holder was controlled with a circulating refrigerating water bath at 25°C. The assays for Pyruvate kynase (PK) followed the disappearance of NADH at 340nm. Citrate synthase (CS) was monitored at 412nm to detect the transfer of sylphydryl groups to the 5,5' dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB). The extinction coefficients for NADH and DTNB were respectively 6.22 and 13.6 ml cm⁻¹ μmol⁻¹. The sample of the extracted sperm solution (thawed from cryopreservation) was homogenated with a Wheaton micro tissue grinder for 2 min on ice. The sample volume have been adjusted to provide a response which was linear for at least 2 min, but reactions were followed for 5 min. Multisubstrate reactions were started by the addition of the

substrate which was omitted for the control. The reaction medium contained DNTB (0.1 mM), Acetyl-CoA (0.1 mM), Oxaloacetate (0.15 mM) and Tris-HCl (100 mM, pH=8.0) for CS analyses and NADH (0.15 mM), Phospho(enol)puruvic acid (5 mM), LDH (0.6 U/ml), MgCl₂ (10 mM), KCl (100 mM), ADP (5 mM) and Tris-HCl (50 mM, pH=7.0) for PK analyses. The concentrations have been optimized so that the activity was directly proportional to the quantity of enzyme added to the reaction medium. All assays were run in duplicate. The activities are expressed in units ($\mu\text{mol substrate transformed to product min}^{-1}$) $10^6 \text{ spermatozoa}^{-1}$.

Statistical analysis

Analyses were performed using SYSTAT version 10 (SPSS Inc, 2000). The assumptions for parametric tests were verified prior to each test. If transformation proved impossible non-parametric statistics were used.

Discriminant function analyses (DFA) were performed to determine which variables predicted the tactics used by sticklebacks. We discarded every variable that had co-linearity except those that were biologically relevant. A high tolerance (over 0.50) was required for each variable. The homogeneity of within-group variance-covariance was graphically checked by plotting the scores and looking if the spread of points of each group was similar (Tabachnick & Fidell, 1996 in Quinn and Keough, 2002).

Four factor ANOVA were also performed to test for differences in morphologic traits and sperm parameters among reproductive tactics, age, sampling time and experimental pools (nested in period of sampling). These tests were also performed excluding FTM to examine differences between TM and NTM.

A Territorial Spermatic Index (TSI) was constructed by choosing various sperm parameters favoring one or the other tactic (eq. 1). This index included key parameters that may have an influence on sperm competition taking in consideration the reproductive context of each tactics. The numerator of this function was estimated by the product of the parameters that favored TM and the ones that favored NTM were included in the denominator.

$$\text{(Equation 1) } TSI = \frac{\text{Parameter favoring TM}}{\text{Parameter favoring NTM}} \Rightarrow \frac{P_{TM_1} * P_{TM_2} \dots \dots * P_{TM_i}}{P_{NTM_1} * P_{NTM_2} \dots \dots * P_{NTM_j}}$$

Results

Territoriality assessment

After the first nesting trial, 55 males exhibited the territorial reproductive tactic (TR) and 58 did not nest (NTM) with an average of 4.5 ± 1.3 (from 2 to 7 territorial males per pool) territorial males per pool. Twenty five territorial males were 1+ males (45%) and the 30 other were 2+ males (55%). In the second nesting trial, 44% of the TM became non

territorial and 24% of the NTM became territorial. Twenty seven percent of the males remained territorial twice in a row and 39% of the non territorial males remained non territorial.

Mating tactic discrimination

We performed discriminant function analyses to determine which variables allowed us to distinguish males on the basis of their mating tactics. We selected 10 variables from the 32 available ones to build the model of discriminant function analysis (fig. 1). The following variables (lateral amplitude, ALH; beat frequency, BCF; straightness, STR; percentage of rapid sperm, RAP; sperm concentration per gram of gonad, SCPG; rate of lost on path velocity, RLVAP; total length, LF; gonado-somatic index, GSI; fish coloration, COL; citrate synthase activity, CS) discriminated significantly each reproductive tactic ($P < 0.001$; Wilk's lambda = 0.446).

The gonado-somatic index was globally the most discriminant variable and was associated with the TM tactic. The other variables only revealed very small differences among the three tactics. However, sperm concentration and fish coloration also showed some power at discriminating respectively the NTM and the FTM. This discriminant function analysis revealed that the FTM was a middle group between NTM and TM males.

The TM had a significantly higher gonado-somatic index ($F_{2,86} = 26.8$, $P < 0.001$) than NTM and FTM (TM > FTM > NTM). Despite an overall significant relationship between

condition index and gonado-somatic index ($r=0.521$, $df=54$, $P<0.001$, fig.2), the condition index did not discriminate males on the basis of their mating tactics ($F_{2,86}=1.78$, $P=0.175$). The relationship between the condition and the gonado-somatic index was only significant in NT males ($r=0.579$, $P<0.001$, $n=44$).

Territorial spermatic index

We designed a territorial spermatic index (TSI) by taking into account sperm traits that showed significant or nearly significant differences among tactics (TOTSPERM: $F_{2,86}=3.8$, $P=0.026$; RAP: $F_{1,36}=3.8$, $P=0.059$; RLVAP: $F_{1,54}=3.5$, $P=0.067$) and other key parameters involved in sperm competition. Our reasoning was that it may be more relevant to examine a suite of sperm traits rather than single ones to discriminate mating tactics. We deliberately decided to oppose parameters that were favourable to TM against the ones that favoured NTM (tab. 1). The characteristics chosen to build the TSI were; sperm path velocity (VAP), percentage of rapid sperm (RAP) and estimated total sperm number (TOTSPERM) advantaging TM and lost of path velocity (RLVAP), percentage of motile sperm (MOT) and sperm concentration per gram of gonad (SCPG) advantaging NTM. Using these parameters as a whole, there was a significant difference between the TM and NTM ($F_{2,86}=6.8$, $P=0.002$; Tuckey test, $P=0.005$).

Sperm longevity

The stickleback's sperm stayed active for more than 20 hours under our experimental conditions (fig. 3). During this time frame, it lost about 30% of its initial velocity (28.1 to

18.8 $\mu\text{m}/\text{sec}$). The loss of the velocity seemed to follow a logarithmic function but the percentage of motile sperm appeared to decrease in a linear fashion. After 20 hours, over 50% of motile sperm was lost as the percentage dropped from 20.1 to 8.8%. The sperm of TM tended to lose sperm velocity at a faster rate than NTM (RLVAP, $F_{1,54}=3.5$, $P=0.067$). The percentage of rapid sperm decreased significantly faster in TM as compared to NTM (RLRAP, $F_{1,38}=7.5$, $P=0.009$). However, there was no difference in the rate loss of the percentage of motile sperm between the reproductive tactics (RLMOT, $F_{1,54}=1.3$, $P=0.256$).

Sperm metabolism

There was no difference in the activity of citrate synthase and pyruvate kinase between the TM and NTM (PK; $F_{2,41}=0.08$, $P=0.921$ and CS; $F_{1,29}=1.7$, $P=0.201$). We expected to see a correlation between enzyme activity and sperm motility. In contrast, the performance in terms of path velocity (VAP) was negatively related to the enzyme activity of pyruvate kinase (PK; $r = -0.332$, $P=0.003$, $n=77$) but not with the activity of citrate synthase (CS; $r_s = -0.199$, $P=NS$, $n=80$). From the present study it appeared that sperm with a lower swimming speed have higher PK activity than sperm with higher velocity. Furthermore, both PK and CS were negatively related to relative sperm production (TOTSPERM: PK; $r = -0.732$, $P<0.001$, $n=77$ and CS; $r = -0.687$, $P<0.001$, $n=80$), sperm concentration per gram of gonad (SCPG: PK; $r = -0.707$, $P<0.001$, $n=77$ and CS; $r = -0.740$, $P<0.001$, $n=80$), and gonado-somatic index (GSI: PK; $r = -0.476$, $P<0.001$, $n=77$ and CS; $r_s = -0.332$, $P<0.01$, $n=80$) (fig. 4).

Discussion

Sperm motility and longevity

Theoretical and empirical studies have revealed that sperm competition can be powerful at selecting characteristics that help maximise reproductive success in males with alternative reproductive tactics (Parker, 1990). Fast sperm (here defined in terms of velocity and motility), has been shown to be an important factor in reproductive success (Snook, 2005). Results from our study failed to reveal differences in sperm velocity and motility among males with different reproductive tactics but showed that TM tended to lose more sperm velocity and a significantly higher percentage of rapid sperm over time than non territorial males. It is not clear whether the differences in motility loss are biologically meaningful since sticklebacks eggs can be fertilised for roughly 3 hours (Thomopoulos, 1953) and most of the differences appear to take place after 10 hours. The lower decline in rapid sperm in non territorial males may translate into higher fertilization success. Previous work on Atlantic salmon (Vladic and Jarvi, 2001) has shown that parr (NTM) sperm have a higher percent motility than sperm from anadromous males. In bluegill sunfish, sneakers had initially faster swimming sperm than parental males (Burness et al., 2004). Faster motility is assumed to be under selection in sneakers because they always spawn in presence of territorial males whereas the latter often have unique access to females. In the Atlantic salmon, the sneaker males also have a longer duration of sperm motility (Vladic and Jarvi, 2001). Each reproductive strategy has its particular constraints and the sperm

characteristics that are important for fertilisation are likely to vary among species (Snook, 2005). In bluegill sunfish, the majority of female's eggs are fertilized within 5 to 10 s after ejaculation (Burness et al., 2004) so it is likely that small initial motility differences may translate into differential fertilization success. By contrast, the fact that sticklebacks eggs can be fertilized for a much longer time frame suggest that, long-lived sperm may be favoured in this species. Species that reproduce in still water typically have long-lived sperm whereas species that reproduce in turbulent water often have short-lived sperm (Balshine et al., 2001; Taborsky, 1998). The anadromous population studied here spawn in small ponds. Therefore motility, velocity and sperm longevity should be key parameters for fertilization success in three-spined sticklebacks.

Sperm production

Territorial males invested significantly more in their gonads (gonado-somatic index) and produced a greater relative number of spermatozoa than non territorial males. GSI was the most significant factor discriminating stickleback males with different reproductive tactics. There were no significant differences in sperm concentration among males showing different reproductive tactics. Our results are at odds with what is found in the literature. It has been reported that sneakers in bluegills and Atlantic salmon invest more than parental males in sperm production relatively to their body size and also in sperm concentration (Leach and Montgomerie, 2000; Vladic and Jarvi, 2001). These studies also revealed that the relative investment in gonads (GSI) and sperm production is higher for sneakers in

accordance with theory. It could be that sperm longevity is a more important factor than sperm number for fertilization success in sneakers three-spined sticklebacks.

Sperm duration

The three-spined stickleback is unusual in that its sperm can swim for up to 24 hours (Elofsson et al., 2003a). As explained above, species living in static water often have longer-lived sperm than species living in fast flowing water. Laboratory conditions also play an important role in determining sperm duration. The ionic composition of the artificial medium required for the laboratory analyses can also affect sperm kinematics (Lahnsteiner et al., 1999) and can extend considerably the duration of sperm motility from a few minutes to several hours (Elofsson et al., 2003a). A previous study on stickleback sperm revealed a higher percentage of motile sperm and more motile sperm than what was found in our study. The differences between our results and the ones from Elofsson et al. (2003a), VSL around 42 vs 25 $\mu\text{m/s}$, are probably associated with temperature at which the analyses were performed (12°C in our case as opposed to 20°C), the sample storage temperature used between each analysis, and the medium (activation sperm solution). In fact, the sperm velocity is higher and has a shorter duration at 20°C than at 12°C (unpublished data). Threshold values used to define motile sperm may vary among studies making difficult the comparison of this parameter. The technique we used to extract the sperm may also have increased contamination with interstitial and intracellular fluid and included more immature spermatozoa (Lahnsteiner et al., 1998b). The other study performed on three-spined sticklebacks from the same population report a sperm longevity

of 440 sec (Defraipont et al., 1993) but these results must be interpreted with caution since the sperm was obtained from stripping and diluted solely with water. Our preliminary analysis showed that without adding buffer, mostly sperm were rapidly fixed on the slide.

Interactions between sperm traits

Taking together the most important characteristics involved in sperm competition, we built a territorial spermatoc index (TSI). We suggest that the interactions of two or more sperm characteristics may be more important than single parameters when considering selection on sperm parameters. For example, the velocity of a spermatozoa may not matter if it does not stay active long enough to fertilize the eggs. It is also important to consider sperm traits in function of the different constraints faced by each tactic. Female three-spine sticklebacks spawn in a nest in close contact with TM whereas NTM always face sperm competition and often release sperm at some distance from the nest. Therefore a TM could benefit of a sperm that will be fast (RAP, VAP) and the NTM could take advantage of a sperm that will stay active for a longer period (MOT, RLVAP). The relative total sperm number was higher in TM, so NTM should benefit by having more concentrated sperm as seen in bluegills (Burness et al., 2004). The significant difference in the index value of each tactic reveals that such an integrative index is a good approach to investigate the interactions among different sperm traits.

Reproductive tactic determination

Our results suggest that reproductive behaviour is not fixed in three-spined stickleback. Many males that were classified as non territorial in the first trial became territorial in the second trial and other males switch from territorial to non territorial. Thus the social environment alone can induce a switch in the reproductive tactic of a single male. These results are highly relevant since all previous studies that have attempted to correlate some factors with territorial status have defined territorial males on the basis of a single trial. Furthermore, most studies have examined territorial status by competing males in pairs (Barber et al., 2001; Barber et al., 2000; Whoriskey, 1991; Zbinden et al., 2004). Our results also revealed that the facultative territorial group of males (FTM) was a middle group between non territorial and territorial males, therefore reflecting differences in relative reproductive investment. This facultative behaviour in three-spined sticklebacks may help explain why so little differences in sperm performance were found between males with alternate reproductive tactics. Indeed territorial salmon and bluegill sunfish males invest considerably more energy than sneakers in reproduction as they delay maturity for many years, and hence selection on sperm characters should be stronger in these species than in three-spined sticklebacks where the sneaking tactic is flexible and where there is no delay in maturity in territorial males.

Sperm metabolism

Few studies have used sperm enzymatic activities as an indicator of sperm metabolic capacity. In recent studies on human sperm, Ruiz-Pesini et al. (1998; 2000) found a positive

relationship between aerobic capacity and sperm motility. Lahnsteiner et al. (1998a) found a relationship between semen fertility capacity and malate dehydrogenase activity and aspartate aminotransferase activity in rainbow trout. In the same study, they found that sperm motility is also related to semen fertilization capacity. With the extreme and rapid diversity of sperm traits generated by the selective forces of sperm competition (Snook, 2005), we expected to find differences between tactics as the metabolic capacity may determine the energetic flux available for sperm motility. A recent study of bluegill has found that initial sperm velocity was correlated with starting ATP level in spermatozoa, suggesting that sperm competition has selected energetic capacity in the faster sperm of sneaker males (Burenness et al., 2004). Our results show that there is no difference in the enzymatic activity of CS (indicator of aerobic capacity and of mitochondrial volume) and PK (indicator of glycolytic capacity) between reproductive tactics. Moreover, we found no relationship between sperm velocity (VAP) and CS activity and an unpredicted relationship with PK activity. Surprisingly, slow sperm with low motility have the highest level of PK activity. We were expecting glycolytic capacity to be related to fast initial velocity. The relationship found between sperm production and metabolism is the same as the one with PK activity. We detected a highly significant negative relationship between sperm metabolic capacity as expressed by PK and CS activity and three sperm investment parameters (estimated total sperm number, sperm concentration per gram of gonad and gonado-somatic index). These relationships indicated that the metabolic capacity of CS and PK rapidly dropped as the sperm investment increased.

Most studies on fish sperm metabolism have been performed on either cyprinids or salmonids to develop cryopreservation techniques for the aquaculture industry. In our study, we investigated the relationship between sperm performance and enzymatic activity in a different model species, that allowed us to look at potential metabolic adaptations associated to different reproductive tactics. The relative importance of the different metabolic pathways is likely to vary between species (Dreanno et al., 1999). For example, the sperm metabolism of the Danube bleak and the rainbow trout rely on glycolytic and aerobic pathways (Lahnsteiner et al., 1999) while African catfish spermatozooids depend on glucid and lipid oxidation (Mansour et al., 2003). In Atlantic salmon and bluegill, initial ATP level favour sperm motility and swimming speed (Burness et al., 2004; Vladic and Jarvi, 2001), but intuitively lipid catabolism and β -oxidation of fatty acid could be potential sources of energy for the long-term request in three-spined stickleback sperm. This indicates that different energy-supplying pathways can be involved in motility of fish spermatozoa.

In our study the lack of relationship between CS activity and sperm performance suggest that there is an excess of mitochondrial content to ful fill the energetic requirements for motility. Considering the long duration of sperm motility, it is quite likely that endurance instead of high power performance (fast motility) is a key parameter of sperm physiology to optimize fertilization success in three-spined sticklebacks. Endurance metabolism in animals usually relies, at least partly, on lipid oxidation and its rate may be set by the rate of substrate mobilisation. The reverse correlation between PK activity and

motility could therefore reflect space competition between lipid and glucid catabolic pathways. Sperm respirometry analyses and the use of metabolic inhibitors would further help to obtain a global idea of the major metabolic processes related to the spermiatic performance of this species.

Computer-assisted sperm production

The utilisation of a computer-assisted sperm analysis (CASA) has become increasingly popular to examine sperm quality in fish (Burness et al., 2004; Dreanno et al., 1999; Elofsson et al., 2003a; Elofsson et al., 2003b; Jobling et al., 2002; Lahnsteiner et al., 1999; O'Connell et al., 2002). This new technology allows an objective and precise investigation of sperm traits (Kime et al., 2001). The use of this system does not alleviate comparison problems among studies. Rigorous details of different parameters (e.g. rapid, medium and slow cells) as well as temperature of the stage or working room should be provided. Sperm velocity should be expressed in sperm length per sec rather than absolute value ($\mu\text{m/s}$) to facilitate comparisons among species.

Conclusion

In conclusion, we showed that male three-spined sticklebacks with varying levels of reproductive investment (NTM, FTM, TM) had no significant differences in sperm velocity or percentage of motile sperm. These results are at odds with sperm competition theory that predicts a greater sperm swimming speed and relative sperm production for NTM. NTM lost a significantly smaller percentage of rapid sperm than TM over time thus it is possible

that sperm duration may be an important factor for fertilization success in this species. However further investigations are needed to verify if sperm can still fertilised eggs after being active for as long as 10 hours.

The results obtained with the territorial spermatic index suggest that the interaction of two or more sperm characteristics may be more important than considering the effect of only one parameter at a time. It also revealed that the reproductive constraints should be taking into account when evaluating the significance of sperm traits.

There was no relationship between sperm performance and the enzymatic activity of CS and a negative exponential relationship with the enzymatic activity of PK. With the limited knowledge in fish sperm metabolism, further work should shed light on how metabolic pathways are involved in sperm motility.

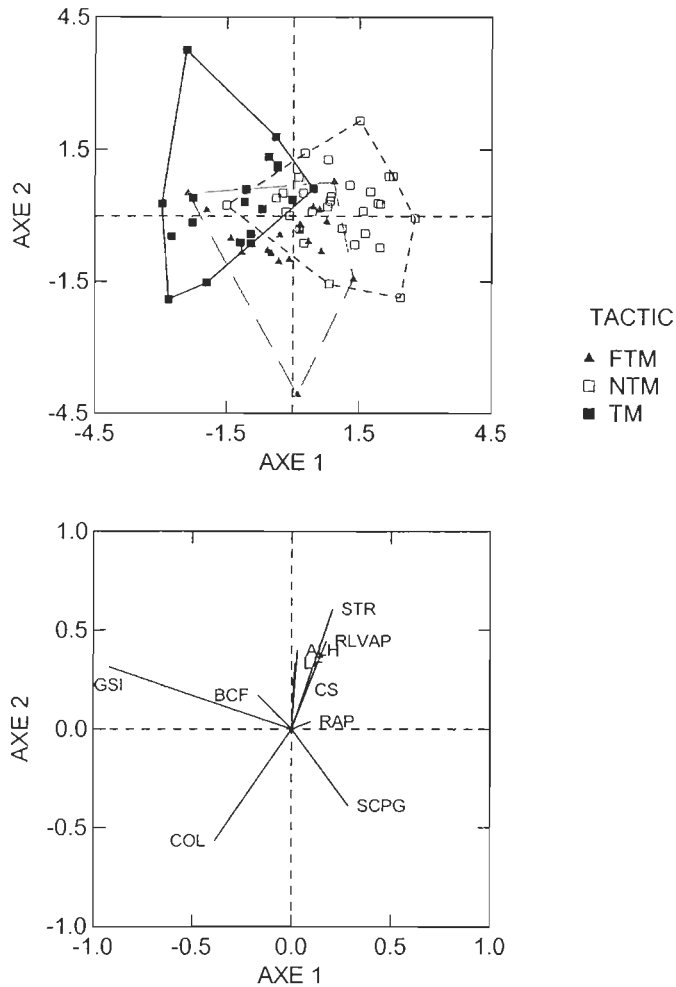


FIG. 1. Discriminant function analysis of the three different reproductive tactics (NTM = non-territorial males, $n=30$; FTM= facultative-territorial males, $n=20$; and TM = territorial males, $n=19$) based on 10 out of 30 parameters available (Wilks' lambda = 0.452, $P<0.001$). Parameters: ALH = lateral amplitude, BCF = beat frequency, STR = straightness, RAP = rapid percentage, SCPG = sperm concentration per gram of gonad, RLVAP = lost of path velocity, LF = total length, GSI = gonado-somatic index, COL = fish coloration, and CS = CS activity in sperm.

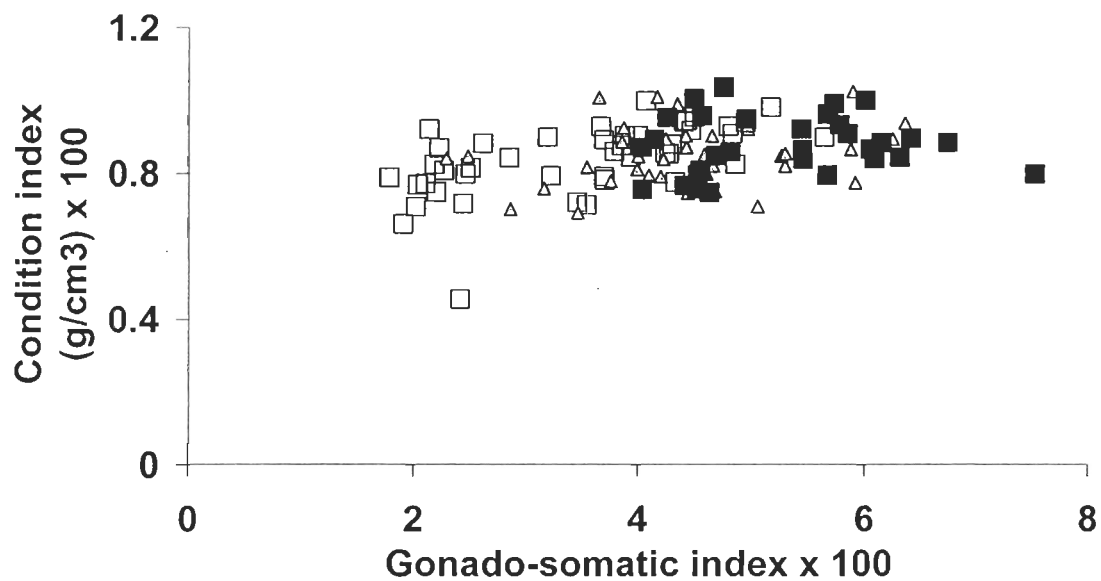


FIG. 2. Relationship between condition index and gonado-somatic index for each male stickleback ($r=0.398$, $P<0.001$, $n=113$). Non-territorial males (NTM, $r=0.579$, $P<0.001$, $n=44$) are shown with *open squares*, facultative-territorial males (FTM, $r=0.261$, $P=NS$, $n=38$) with *grey triangles* and territorial males (TM, $r=0.085$, $P=NS$, $n=31$) with *close squares*.

TABLE 1. Morphologic, spermatic and physiological characteristics for non-territorial (NTM, $n=44$), facultative-territorial (TFM, $n=38$) and territorial (TM, $n=31$) males three-spined stickleback. Values are presented as means and standard deviations.

Parameter	Non-territorial males $\bar{x} \pm S.D.$	Facultative-territorial males $\bar{x} \pm S.D.$	Territorial males $\bar{x} \pm S.D.$
<i>Morphology traits</i>			
Total mass (g)	2.55 \pm 0.80	2.47 \pm 0.78	2.70 \pm 0.77
Gonads mass (g)	0.09 \pm 0.04 ^a	0.11 \pm 0.04 ^b	0.14 \pm 0.05 ^c
Total length (cm)	6.65 \pm 0.63	6.55 \pm 0.61	6.69 \pm 0.60
Condition index (g / cm ³) x 100	0.84 \pm 0.10	0.85 \pm 0.08	0.88 \pm 0.08
Gonado-somatic index x 100	3.48 \pm 1.06 ^a	4.44 \pm 0.95 ^b	5.29 \pm 0.89 ^c
Visual coloration score	1.34 \pm 0.53	2.18 \pm 0.90	2.13 \pm 1.06
<i>Sperm traits</i>			
Path velocity ($\mu\text{m} / \text{s}$)	27.73 \pm 6.10	28.56 \pm 8.34	28.93 \pm 8.01
Progressive velocity ($\mu\text{m} / \text{s}$)	23.94 \pm 6.98	25.31 \pm 8.51	25.86 \pm 8.14
Speed track ($\mu\text{m} / \text{s}$)	49.58 \pm 7.50	46.95 \pm 10.72	47.14 \pm 8.51
Lateral amplitude (μm)	3.35 \pm 1.80	2.97 \pm 2.44	3.48 \pm 3.58
Beat frequency (Hz)	31.55 \pm 6.49	31.54 \pm 7.32	32.40 \pm 6.87
Straightness (%)	84.07 \pm 9.03	84.16 \pm 15.34	87.03 \pm 5.09
Motile percentage (%)	20.50 \pm 13.39	20.74 \pm 17.54	18.68 \pm 17.62
Rapid percentage (%)	4.50 \pm 7.75	6.00 \pm 8.52	6.55 \pm 11.83
Estimated total sperm number (10^6 spz)	65.91 \pm 55.12 ^a	86.91 \pm 91.79 ^{ab}	81.32 \pm 66.70 ^b
Sperm concentration (10^6 spz / g gonad)	705.49 \pm 455.68	740.79 \pm 586.79	558.90 \pm 362.65
Lost of path velocity ($\mu\text{m} / \text{s}^2$)	-0.38 \pm 0.45	-0.50 \pm 0.44	-0.59 \pm 0.39
Lost of speed track ($\mu\text{m} / \text{s}^2$)	-0.33 \pm 0.72	-0.41 \pm 0.59	-0.57 \pm 0.65
Lost of motile percentage (% / s)	-0.62 \pm 0.55	-0.48 \pm 0.67	-0.54 \pm 0.71
Lost of rapid percentage (% / s)	-0.22 \pm 0.39 ^a	-0.35 \pm 0.45 ^{ab}	-0.47 \pm 0.67 ^b
PK activity in sperm (U / 10^6 spz)	0.30 \pm 0.38	0.13 \pm 0.07	0.15 \pm 0.06
CS activity in sperm (U / 10^6 spz)	0.07 \pm 0.11	0.06 \pm 0.09	0.05 \pm 0.05
Territorial spermatic index (s * g)	0.12 \pm 0.16 ^a	0.22 \pm 0.29 ^b	0.28 \pm 0.43 ^b

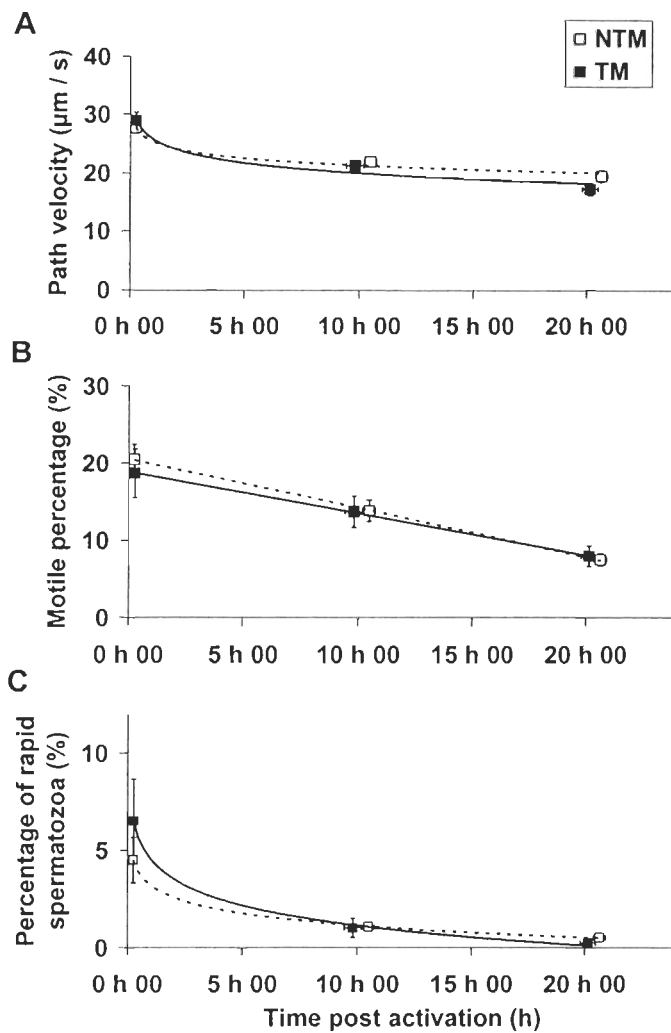


FIG. 3. Mean (\pm SD) of **A** sperm path velocity (VAP), **B** percentage of motile sperm (MOT) and **C** percentage of rapid sperm (RAP) at different time post activation for territorial males and non territorial males. Between tactics, the rate lost of sperm velocity is nearly significant (RLVAP, $F_{1,54}=3.5$, $P=0.067$, NTM > TM), non significant for the rate lost of the percentage of motile sperm (RLMOT, $F_{1,54}=1.3$, $P=0.256$) and significant for the rate lost of the percentage of rapid sperm (RLRAP, $F_{1,38}=7.5$, $P=0.009$, NTM > TM).

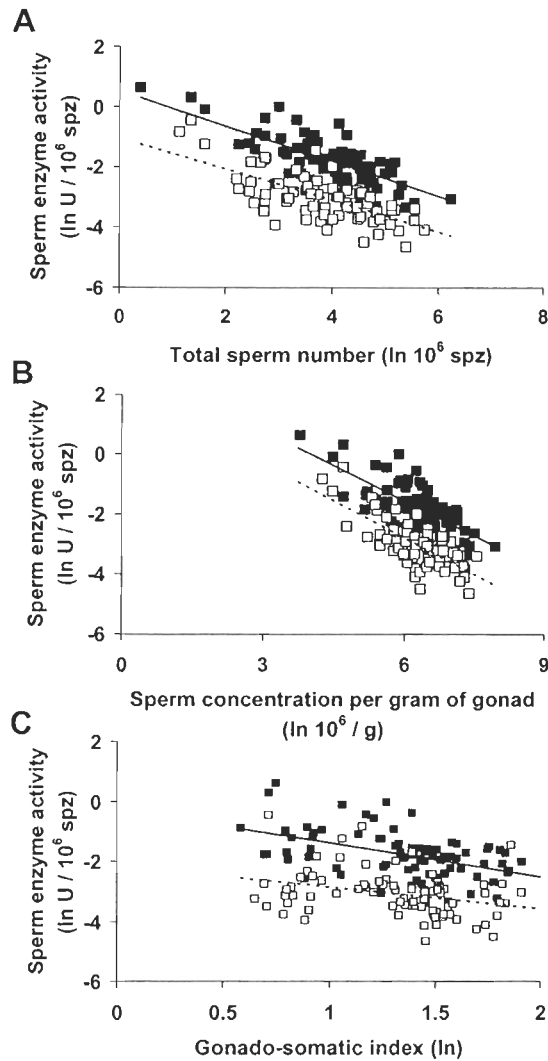


FIG. 4. Relationship between spermatic enzyme activity and **A** total sperm number (TOTSPERM: PK; $r = -0.732$, $P < 0.001$, and CS; $r = -0.687$, $P < 0.001$), and **B** sperm concentration per gram of gonad (SCPG: PK; $r = -0.707$, $P < 0.001$, and CS; $r = -0.740$, $P < 0.001$), **C** and gonado-somatic index (GSI: PK; $r = -0.476$, $P < 0.001$, and CS; $r_s = -0.332$, $P < 0.01$). PK activity in sperm ($n=77$) are shown with *close squares* and CS activity in sperm ($n=80$) with *open squares* for each three-spined stickleback male.

Conclusion générale

La présente recherche avait pour objectif principal de déterminer dans un premier temps si les mâles gardiens, malgré un investissement énergétique substantiel dans les caractères sexuels secondaires, ont une semence d'aussi bonne qualité que les mâles furtifs qui n'investissent pas dans ces caractères. Cette question s'insère dans un domaine où l'étude de la variation intraspécifique des caractéristiques spermatiques a été très peu faite jusqu'à présent. L'utilisation d'un autre model, comme l'Épinoche à trois épines, a permis de découvrir que cette espèce ayant un sperme à grande longévité possédait des caractéristiques spermatiques différentes des prédictions suggérées par la compétition spermatique. En effet, nos résultats ne démontrent aucune différence significative favorisant le potentiel reproducteur des males non-territoriaux quant à la vitesse de nage, la motilité et la concentration en spermatozoïdes. Ce manque de différence ne peut pas être relié à un manque de discrimination entre les tactiques de reproduction, puisque celle-ci a été validée à l'aide d'une analyse multivariée. Toutefois, les caractéristiques déterminantes de la paternité et la direction de la sélection de ces traits sont sujettes à varier entre les espèces.

L'Épinoche à trois épines est marquée par des phénotypes très similaires entre les différentes tactiques de reproduction. Ceci pourrait témoigner d'un phénomène évolutif récent en cours de spéciation. Dans cette éventualité, cette espèce constituerait un excellent modèle pour la compréhension des pressions sélectives agissant sur les paramètres descripteurs du potentiel reproducteur. Ainsi, nos résultats présentent la production relative

en spermatozoïdes (indice gonado-somatique favorisant les mâles territoriaux) parmi les premiers paramètres discriminant les différentes tactiques. Les mâles n'ayant pas atteint une certaine production pourraient opter pour une tactique de reproduction furtive. Nos résultats semblent également indiquer que l'interaction de plusieurs paramètres des spermatozoïdes pourrait avoir un effet amplificateur sur le potentiel reproducteur d'un individu. Ces interactions permettraient aux mâles non territoriaux d'avoir des traits spermatiques leur donnant la possibilité de rivaliser avec les mâles territoriaux lors d'une fertilisation furtive. D'autres analyses devraient donc être réalisées pour connaître l'impact réel de ces interactions sur le succès de fertilisation en milieu naturel.

Dans un deuxième temps, cette étude a cherché à déterminer dans quelle mesure la capacité métabolique des spermatozoïdes est en relation avec la performance des spermatozoïdes. En se basant sur le fait que l'activité enzymatique est à la base des processus biochimiques fournissant l'énergie nécessaire à la motilité des spermatozoïdes, une forte relation était attendue entre celle-ci et la performance des spermatozoïdes. Le lien obtenu entre ces deux paramètres suggère plutôt que l'activité de la citrate synthase (indicateur de cycle du citrate et du volume de mitochondrie) et la pyruvate kinase (indicateur de la glycolyse) ne sont pas associées à la performance des spermatozoïdes. Aucune relation n'a été décelée entre la citrate synthase et la performance des spermatozoïdes alors qu'une relation négative a étonnamment été observée pour la pyruvate kinase. Les semences avec peu de spermatozoïdes motiles et avec une faible vitesse sont donc celles ayant la plus grande capacité glycolytique. Ceci va à l'encontre de nos

prédictions stipulant que la capacité glycolytique serait plus importante pour des spermatozoïdes ayant une vitesse initiale de nage élevée. Suivant le manque d'information sur l'importance, l'efficacité et le fonctionnement des différentes voies métaboliques des spermatozoïdes, d'autres études seraient justifiées pour déterminer l'importance relative des voies investiguées face à d'autres. Par exemple, la β -oxydation des acides gras serait une excellente avenue d'approfondissement compte tenu que le sperme de l'Épinoche à trois épines possède une très longue durée.

Parallèlement, notre étude a également démontré l'importance des facteurs environnementaux et comportementaux lors de la reproduction. L'évaluation du comportement reproducteur à deux reprises a permis d'identifier un groupe intermédiaire au deux tactiques de reproduction, soit des individus à territorialité facultative. Ces individus ont changé de tactique suite à une exposition à un environnement social différent. Cette méthode expérimentale pourrait faciliter la recherche de critères discriminant les différentes tactiques de reproduction au sein d'autres espèces.

Bibliographie

- Balshine, S., B.J. Leach, F. Neat, N.Y. Werner, R. Montgomerie. 2001. Sperm size of african cichlids in relation to sperm competition. **Behavioral Ecology**, volume 12: numéro 6, pp. 726-731
- Barber, I., S.A. Arnott. 2000. Split-clutch ivf: A technique to examine indirect fitness consequences of mate preferences in sticklebacks. **Behaviour**, volume 137: numéro pp. 1129-1140
- Barber, I., S.A. Arnott, V.A. Braithwaite, J. Andrew, F.A. Huntingford. 2001. Indirect fitness consequences of mate choice in sticklebacks: Offspring of brighter males grow slowly but resist parasitic infections. **Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences**, volume 268: numéro 1462, pp. 71-76
- Barber, I., S.A. Arnott, V.A. Braithwaite, J. Andrew, W. Mullen, F.A. Huntingford. 2000. Carotenoid-based sexual coloration and body condition in nesting male sticklebacks. **Journal of Fish Biology**, volume 57: numéro 3, pp. 777-790
- Birkhead, T.R., A.P. Moller. 1998. **Sperm competition and sexual selection**. London, Academic Press, 826 p.
- Blouw, D.M. 1996. Evolution of offspring desertion in a stickleback fish. **Ecoscience. Sainte-Foy**, volume 3: numéro 1, pp. 18-24
- Bronseth, T., I. Folstad. 1997. The effect of parasites on courtship dance in threespine sticklebacks: More than meets the eye? **Canadian Journal of Zoology.**, volume 75: numéro 4, pp. 589-594
- Burness, G., S.J. Casselman, A.I. Schulte-Hostedde, C.D. Moyes, R. Montgomerie. 2004. Sperm swimming speed and energetics vary with sperm competition risk in bluegill (*Lepomis macrochirus*). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, volume 56: numéro 1, pp. 65-70
- Chellappa, S., F.A. Huntingford, R.H.C. Strang, R.Y. Thomson. 1989. Annual variation in energy reserves in male three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. (pisces, Gasterosteidae). **Journal of Fish Biology**, volume 35: numéro 2, pp. 275-286
- Cubillos, E.R., H.E. Guderley. 2000. Analysis of the factors related with mate choice and reproductive success in male three-spined sticklebacks. **Journal of Fish Biology**, volume 56: numéro 5, pp. 1201-1216

- Defraipont, M., G.J. Fitzgerald, H. Guderley. 1993. Age-related differences in reproductive tactics in the 3-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. **Animal Behaviour**, volume 46: numéro 5, pp. 961-968
- Dreanno, C., J. Cosson, M. Suquet, F. Seguin, G. Dorange, R. Billard. 1999. Nucleotide content, oxydative phosphorylation, morphology, and fertilizing capacity of turbot (*Psetta maxima*) spermatozoa during the motility period. **Molecular Reproduction and Development**, volume 53: numéro 2, pp. 230-243
- Dufresne, F., G.J. FitzGerald, S. Lachance. 1990. Age and size-related differences in reproductive success and reproductive costs in threespine sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). **Behavioral Ecology**, volume 1: numéro 2, pp. 140-147
- Elofsson, H., B.G. McAllister, D.E. Kime, I. Mayer, B. Borg. 2003a. Long lasting stickleback sperm; is ovarian fluid a key to success in fresh water? **Journal of Fish Biology**, volume 63: numéro 1, pp. 240-253
- Elofsson, H., K. Van Look, B. Borg, I. Mayer. 2003b. Influence of salinity and ovarian fluid on sperm motility in the fifteen-spined stickleback. **Journal of Fish Biology**, volume 63: numéro 6, pp. 1429-1438
- Fitzgerald, G. 1983. The reproductive ecology and behaviour of three sympatric sticklebacks (*Gasterosteidae*) in a saltmarsh. **Biology of behaviour**, volume 8: numéro 1, pp. 67-79
- FitzGerald, G.J., G.I. Kedney. 1987. Aggression, fighting, and territoriality in sticklebacks: Three different phenomena? **Biology of Behaviour**, volume 12: numéro 4, pp. 186-195
- Fu, P., B.D. Neff, M.R. Gross. 2001. Tactic-specific success in sperm competition. **Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences**, volume 268: numéro 1472, pp. 1105-1112
- Gage, M.J.G., C.P. Macfarlane, S. Yeates, R.G. Ward, J.B. Searle, G.A. Parker. 2004. Spermatozoal traits and sperm competition in atlantic salmon: Relative sperm velocity is the primary determinant of fertilization success. **Current Biology**, volume 14: numéro 1, pp. 44-47
- Gilbert, S.F. 1996. **Biologie du développement**. 4e éd., Paris, De Boeck & Larcier, 891 p.
- Gronczewska, J., M.S. Zietara, A. Biegniewska, E.E. Skorkowski. 2003. Enzyme activities in fish spermatozoa with focus on lactate dehydrogenase isoenzymes from herring *Clupea harengus*. **Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology**, volume 134: numéro 3, pp. 399-406

- Gross, M.R., J. Repka. 1998. Stability with inheritance in the conditional strategy. **Journal of Theoretical Biology**, volume 192: numéro 4, pp. 445-453
- Guderley, H., R.C. Guevara. 1998. Physiological correlates of paternal care in male threespine stickleback. **Ecoscience**, volume 5: numéro 4, pp. 438-447
- Jobling, M. 1994. **Fish bioenergetics**. Vol 13, London, Chapman & Hall, 309 p.
- Jobling, S., S. Coey, J.G. Whitmore, D.E. Kime, K.J.W. Van Look, B.G. McAllister, N. Beresford, A.C. Henshaw, G. Brighty, C.R. Tyler, J.P. Sumpter. 2002. Wild intersex roach (*Rutilus rutilus*) have reduced fertility. **Biology of Reproduction**, volume 67: numéro 2, pp. 515-524
- Kime, D.E., K.J.W. Van Look, B.G. McAllister, G. Huyskens, E. Rurangwa, F. Ollevier. 2001. Computer-assisted sperm analysis (casa) as a tool for monitoring sperm quality in fish. **Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology**, volume 130: numéro 4, pp. 425-433
- Kraak, S.B.M., B. Mundwiler, P.J.B. Hart. 2001. Increased number of hybrids between benthic and limnetic three-spined sticklebacks in Enos lake, Canada; the collapse of a species pair? **Journal of Fish Biology**, volume 58: numéro 5, pp. 1458-1464
- Kristjansson, B.K., S. Skulason, D.L.G. Noakes. 2002. Rapid divergence in a recently isolated population of threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.). **Evolutionary Ecology Research**, volume 4: numéro 5, pp. 659-672
- Lahnsteiner, F., B. Berger, T. Weismann. 1999. Sperm metabolism of the teleost fishes *Chalcalburnus chalcooides* and *Oncorhynchus mykiss* and its relation to motility and viability. **Journal of Experimental Zoology**, volume 284: numéro 4, pp. 454-465
- Lahnsteiner, F., B. Berger, T. Weismann, R.A. Patzner. 1998a. Determination of semen quality of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by sperm motility, seminal plasma parameters, and spermatozoal metabolism. **Aquaculture**, volume 163: numéro 1-2, pp. 163-181
- Lahnsteiner, F., T. Weismann, R.A. Patzner. 1998b. An efficient method for cryopreservation of testicular sperm from the northern pike, *Esox lucius* L. **Aquaculture Research**, volume 29: numéro 5, pp. 341-347
- Largiader, C.R., V. Fries, T.C.M. Bakker. 2001. Genetic analysis of sneaking and egg-thievery in a natural population of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.). **Heredity**, volume 86: numéro pp. 459-468

- Leach, B., R. Montgomerie. 2000. Sperm characteristics associated with different male reproductive tactics in bluegills (*Lepomis macrochirus*). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, volume 49: numéro 1, pp. 31-37
- Mansour, N., F. Lahnsteiner, B. Berger. 2003. Metabolism of intratesticular spermatozoa of a tropical teleost fish (*Clarias gariepinus*). **Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology**, volume 135: numéro 2, pp. 285-296
- Nicholls, E.H., T. Burke, T.R. Birkhead. 2001. Ejaculate allocation by male sand martins, *riparia riparia*. **Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences**, volume 268: numéro 1473, pp. 1265-1270
- O'Connell, M., N. McClure, S.E.M. Lewis. 2002. The effects of cryopreservation on sperm morphology, motility and mitochondrial function. **Human Reproduction**, volume 17: numéro 3, pp. 704-709
- Oppliger, A., Y. Naciri-Graven, G. Ribi, D.J. Hosken. 2003. Sperm length influences fertilization success during sperm competition in the snail *viviparus ater*. **Molecular Ecology**, volume 12: numéro 2, pp. 485-492
- Parker, G.A. 1970. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insect. **Biological Reviews**, volume 45, pp. 525-567
- Parker, G.A. 1990. Sperm competition games: Sneaks and extra-pair copulations. **Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences**, volume 242, pp. 127-133
- Parker, G.A. 1998. **Sperm competition and the evolution of ejaculates; towards a theory base**. Dans: Sperm competition and sexual selection Birkhead, T.R., A.P. Moller. London, Academic Press, pp 3-54
- Parker, G.A., M.A. Ball, P. Stockley, M.J.G. Gage. 1997. Sperm competition games: A prospective analysis of risk assessment. **Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences**, volume 264: numéro 1389, pp. 1793-1802
- Quinn, G.P., M.J. Keough. 2002. **Experimental design and data analysis for biologists**. Cambridge, Cambridge University Press, 537 p.
- Ridgway, M.S., J.D. McPhail. 1988. Raiding shoal size and a distraction display in male sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). **Canadian Journal of Zoology**, volume 66: numéro 1, pp. 201-205

- Ruiz-Pesini, E., C. Diez, A.C. Lapena, A. Perez-Martos, J. Montoya, E. Alvarez, J. Arenas, M.J. Lopez-Perez. 1998. Correlation of sperm motility with mitochondrial enzymatic activities. **Clinical Chemistry**, volume 44: número 8, pp. 1616-1620
- Ruiz-Pesini, E., A.C. Lapena, C. Diez, E. Alvarez, J.A. Enriquez, M.J. Lopez-Perez. 2000. Seminal quality correlates with mitochondrial functionality. **Clinica Chimica Acta**, volume 300: número 1-2, pp. 97-105
- Scharer, L., D.R. Robertson. 1999. Sperm and milt characteristics and male v. Female gametic investment in the Caribbean reef fish, *Thalassoma bifasciatum*. **Journal of Fish Biology**, volume 55: número 2, pp. 329-343
- Simmons, L.W., J.S. Kotiaho. 2002. Evolution of ejaculates: Patterns of phenotypic and genotypic variation and condition dependence in sperm competition traits. **Evolution**, volume 56: número 8, pp. 1622-1631
- Snook, R.R. 2005. Sperm in competition: Not playing by the numbers. **Trends in Ecology & Evolution**, volume 20: número 1, pp. 46-53
- SPSS Inc. 2000. Systat. Version 10
- Stockley, P., M.J.G. Gage, G.A. Parker, A.P. Moller. 1997. Sperm competition in fishes: The evolution of testis size and ejaculate characteristics. **American Naturalist**, volume 149: número 5, pp. 933-954
- Taborsky, M. 1998. Sperm competition in fish: 'bourgeois' males and parasitic spawning. **Trends in Ecology & Evolution**, volume 13: número 6, pp. 222-227
- Taborsky, M. 2001. The evolution of bourgeois, parasitic, and cooperative reproductive behaviors in fishes. **Journal of Heredity**, volume 92: número 2, pp. 100-110
- Taylor, E.B., J.D. McPhail. 1999. Evolutionary history of an adaptive radiation in species pairs of threespine sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*): Insights from mitochondrial DNA. **Biological Journal of the Linnean Society**, volume 66: número 3, pp. 271-291
- Thomopoulos, A. 1953. Sur l'oeuf de l'epinoche (*Gasterosteus aculeatus*). **Bulletin de la Société Zoologique France**, volume 78, pp. 142-149
- Vladic, T.V., T. Jarvi. 2001. Sperm quality in the alternative reproductive tactics of atlantic salmon: The importance of the loaded raffle mechanism. **Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences**, volume 268: número 1483, pp. 2375-2381

- Waymann, W.R., T.R. Tiersch. 2000. **Research methods for cryopreservation of sperm.**
Dans: Cryopreservation in aquatic species Tiersch, T.R., P.M. Mazik. Baton Rouge,
Louisiana, World Aquaculture Society, pp 264-275
- Wedell, N., M.J.G. Gage, G.A. Parker. 2002. Sperm competition, male prudence and
sperm-limited females. **Trends in Ecology & Evolution**, volume 17: numéro 7, pp.
313-320
- Whoriskey, F.G. 1991. Stickleback distraction displays: Sexual or foraging deception
against egg cannibalism? **Animal Behaviour**, volume 41: numéro 6, pp. 989-995
- Zbinden, M., C.R. Lurgiader, T.C.M. Bakker. 2004. Body size of virtual rivals affects
ejaculate size in sticklebacks. **Behavioral Ecology**, volume 15: numéro 1, pp. 137-
140



S.V.P. DACTYLOGRAPHIER

(Compléter autant d'autorisation qu'il y a d'auteurs, d'auteurs)

RENSEIGNEMENTS CONCERNANT L'AUTEURE, L'AUTEUR

Nom et prénom : Côté, Jonathan
 Code permanent : COTJ 0405 7900
 Téléphone : (418) 723-1986

Adresse permanente : 15, rue Arél
Yamaska, Québec
J0G 1W0

RENSEIGNEMENTS CONCERNANT LA PRÉSENTATION DU DOCUMENT

Rapport Mémoire Thèse

TITRE : Performance et ~~capacité~~ capacité métabolique des spermatozoïdes associées aux différentes tactiques de reproduction chez l'Épineche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*)

Année du dépôt final du document : 2005

Nom du programme : Gestion de la faune et de ses habitats

Code de programme : 3780 Appellation du grade : M.Sc.

Nom de la directrice ou directeur de recherche : France DuFresne

Nom de la codirectrice, codirecteur de recherche : Pierre Blier

AUTORISATION

J'autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire et à diffuser, soit par photocopie, microfilm ou microfiche, support informatique ou par internet, en totalité ou en partie, à prêter ou à vendre, à des fins de diffusion académiques et non lucratives, des copies de ce rapport, ce mémoire ou cette thèse. **Il est entendu que l'UQAR ne peut aucunement se servir de ce travail pour publication ou à des fins commerciales.** Sauf entente contraire, je demeure propriétaire des droits d'auteurs de mon rapport, de mon mémoire ou de ma thèse et je conserve la liberté de diffuser et d'utiliser commercialement ou non ce travail dont je possède un exemplaire.

Je n'autorise pas l'Université du Québec à Rimouski à reproduire et/ou microfilmer mon rapport, mon mémoire ou ma thèse.

Signature de l'auteur/l'auteur : Jonathan Côté Date : 19 mai 2005



Université du Québec à Rimouski

Bureau du doyen des études
avancées et de la recherche

**Fiche-résumé de travail
de recherche de 2e cycle
ou de 3e cycle soumise lors
du dépôt final**

- Thèse
 Mémoire
 Rapport de recherche
 Rapport
 Travail dirigé

Nom du candidat

Jonathan Côté

Code permanent

COTJ 0905 7900

Programme

Gestion de la faune et de ses habitats

Code de programme

3780

Grade

M.Sc.

Nom du directeur de recherche

France Dufresne

Nom du co-directeur de recherche
(s'il y a lieu)

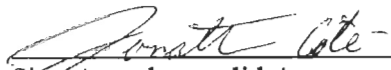
Pierre Blier

Titre du travail de recherche

Performance et capacité métabolique
des spermatozoïdes associées aux
différentes tactiques de reproduction
chez l'Épinoche à trois épines
(Gasterosteus aculeatus)

Nombre de pages

55 pages


Signature du candidat

Date: 19/05/2005


Signature du directeur de recherche

Date: 19/05/05


Signature du co-directeur de recherche

Date: 18/05/05