

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI

**Influence de la stratégie migratrice sur l'investissement reproducteur et
les traits physiologiques liés à la migration chez l'omble de fontaine
(*Salvelinus fontinalis*)**

Thèse présentée

dans le cadre du programme de doctorat en océanographie

en vue de l'obtention du grade de docteur ès sciences

PAR

© MATHIEU CARON

Mars 2012

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.

Composition du jury :

Réjean Tremblay, président du jury, UQAR

Céline Audet, directrice de recherche, UQAR

Louis Bernatchez, codirecteur de recherche, Université Laval

Guy Claireaux, examinateur externe, Université Européenne de Bretagne, Université de Brest

Dépôt initial le 27 août 2010

Dépôt final le 9 mars 2012

Je dédie cette thèse à Rachelle
et Simon, qui m'ont toujours soutenu
inconditionnellement.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier chaleureusement toutes les personnes qui, de façon continue ou ponctuelle, m'ont encouragé et aidé à compléter cette thèse. Mes remerciements s'adressent d'abord à ma directrice de recherche, Céline Audet. Au cours de toutes ces années et de ce long parcours semé d'embûches, j'ai grandement apprécié ta rigueur scientifique, ta disponibilité exemplaire, ta passion de la recherche et surtout, ta patience et ton soutien indéfectible. Tes commentaires se sont toujours avérés constructifs. Ta confiance et ta tenacité m'ont également grandement aidé à mener ce projet de recherche à son terme. Pour toutes ces raisons, faire un doctorat sous ta supervision s'est avéré grandement enrichissant, stimulant et formateur, autant sur le plan professionnel que sur le plan personnel. Merci pour tout!

Je veux également remercier mon codirecteur, Louis Bernatchez. Je dois dire que tes commentaires, toujours très détaillés et constructifs, m'ont poussé à approfondir ma réflexion et ont grandement contribué au perfectionnement de ma thèse. De plus, j'ai été impressionné par ta capacité à analyser les choses en profondeur et à extraire le maximum des résultats que j'ai obtenus. Je tiens également à te remercier pour ton soutien, tes encouragements et le séjour que j'ai passé dans ton laboratoire, qui fut pour moi une expérience professionnelle et personnelle très agréable et enrichissante.

Je tiens également à remercier les autres membres de mon comité de thèse, en l'occurrence Réjean Tremblay et Guy Claireaux, ainsi que Jocelyne Pellerin, pour leurs commentaires constructifs et leur soutien.

Plusieurs autres personnes ont également contribué de façon majeure à mon projet de recherche. Je tiens à remercier tout particulièrement Andréane Bastien, dont les travaux considérables ont été à la base de ce projet. Travailler avec toi a été extrêmement agréable et enrichissant et m'a grandement aidé à voir les choses sous un autre angle et à approfondir ma réflexion. Merci pour ton aide et tes conseils! Merci également à Amélie Crespel, dont la connaissance approfondie de la génétique en général, et du logiciel ASREML en particulier, m'a grandement aidé pour la réalisation et l'analyse de la portion génétique de mon travail. Je dois également une fière chandelle (et même deux) à Bérénice Bougas et à Guillaume Côté, dont les conseils et le soutien technique se sont avérés essentiels à la réalisation de la première partie de mon doctorat. Merci beaucoup pour votre aide!

Je tiens également à remercier tous mes amis et collègues des laboratoires Audet et Bernatchez, tels qu'Erwann, Éric, Julie, Lucie, Sarah, Hamza, Francis, Renée, Marion, Wahiba, Sébastien, Christian, Mélanie, Jérôme, Jesus, Arne, Jonathan, Vincent, Julien, Vicky, Katia, Marika, Scott et les autres, qui m'ont soutenu et aidé, de près ou de loin, dans mon projet de recherche. Je tiens aussi absolument à remercier mon amie Élodie, pour tes encouragements, ton écoute, ton soutien moral et, avant tout, pour ton amitié, qui m'est extrêmement précieuse.

Je m'en voudrais de passer sous silence la contribution du personnel de l'ISMER, dont le soutien et le dévouement envers les étudiants sont vraiment exemplaires.

Je conclurai en remerciant chaleureusement ma famille, sans laquelle rien de tout ceci n'aurait été possible. À ma mère, Rachelle, et à mon père, Simon, je tiens à exprimer jusqu'à quel point je vous suis reconnaissant pour tous vos encouragements et votre conviction profonde que je réussirais, même durant les moments les plus difficiles. Pour cela, et pour tout ce que vous m'avez apporté par ailleurs, je vous remercie du fond du cœur! À mon frère, Vincent, et ma sœur, Marie-Eve, je veux dire merci pour votre soutien indéfectible, vos encouragements, votre compréhension et votre confiance en mes capacités. J'ai toujours été très fier de vous deux et vous m'avez bien rendu la pareille!

RÉSUMÉ

L'objectif principal de la présente recherche était de déterminer si des ombles de fontaine anadromes et résidents d'âge 1+ élevés en milieu contrôlé, dans les mêmes conditions expérimentales, présentaient des différences liées à la croissance, la maturation sexuelle, l'accumulation et l'utilisation des réserves énergétiques hépatiques et musculaires, non seulement sur le plan physiologique, mais aussi sur le plan de l'expression de gènes associés à ces fonctions. Ce projet visait également à déterminer jusqu'à quel point les traits physiologiques étudiés étaient génétiquement transmissibles, par l'entremise de calculs d'héritabilité. Les réponses physiologiques d'hybrides réciproques ont aussi été étudiées afin de déterminer les bases génétiques des traits étudiés. Des ombles anadromes (A) et résidents (R) originaires du bassin de la rivière Laval ont été utilisés pour produire quatre types de croisements ($\text{♀A}\text{♂A}$, $\text{♀A}\text{♂R}$, $\text{♀R}\text{♂A}$, et $\text{♀R}\text{♂R}$). Les conditions d'élevage étaient identiques pour tous les croisements, de l'incubation des œufs jusqu'à l'âge de 22 mois. Tous les poissons âgés de 17 mois ont graduellement ($2\% \text{ jour}^{-1}$) été transférés en eau salée de l'estuaire (salinité finale de 20‰), et ce pour tout l'été (de juin à août). Le premier sous-objectif de l'étude était de comparer les profils d'expression du gène d'IGF-I chez les anadromes et les résidents, et de vérifier si les réponses des hybrides étaient additives (ou intermédiaires) par rapport à celles des souches pures. Une augmentation de l'expression relative du gène d'IGF-I après transfert en eau de mer s'est produite chez les résidents, mais pas chez les anadromes, ce qui suggère qu'il existe des différences génétiques quantitatives entre ces deux formes dans la régulation d'expression de l'IGF-I. Les réponses des hybrides étaient similaires à celles de leurs lignées paternelles. Le deuxième sous-objectif était d'étudier les réponses physiologiques des ombles pour des traits liés à la maturation sexuelle et à l'utilisation des réserves énergétiques, tels que la concentration hépatique de vitellogénine, de glycogène, de lipides et de protéines, l'IGS et l'IHS, et de déterminer si ces traits présentaient une base génétique significative, par des calculs d'héritabilité et de variance des EBV (variances additives estimées). Des calculs de Q_{ST} (différenciation génétique quantitative de traits phénotypiques entre populations) ont également été effectués sur les traits étudiés et comparés aux valeurs de F_{ST} calculées par Perry *et al.* (2005), afin de déterminer jusqu'à quel point les réponses physiologiques observées pouvaient être attribuables à la sélection ou à des processus génétiques neutres. Chez les femelles, des différences entre les anadromes et les résidents sur le plan de l'accumulation des réserves énergétiques hépatiques (principalement le glycogène), de l'IHS et des concentrations hépatiques de vitellogénine entre juin et novembre suggèrent un rythme de maturation et un investissement reproducteur différents pour les deux souches pures. Chez les mâles, aucune différence d'accumulation de glycogène hépatique n'a été observée en novembre, vraisemblablement en raison du coût relativement faible de la reproduction chez les mâles, indépendamment de la stratégie migratrice utilisée. Les valeurs de Q_{ST} , à l'exception du KF, étaient élevées (de 0,31 à 0,82) et généralement supérieures à l'attendu neutre ($F_{ST} = 0,15$), ce qui suggère que des pressions sélectives divergentes ont contribué à maintenir des adaptations locales associées aux stratégies anadrome et résidente dans la

rivière Laval. Le troisième sous-objectif était de mesurer l'activité enzymatique de la cathepsine L et l'expression du gène correspondant et de mesurer l'utilisation des réserves énergétiques dans le muscle épaxial des ombles. Il n'y avait pas d'effet de croisement pour l'expression relative du gène de la cathepsine L. Les activités enzymatiques hépatiques, spécifique et totale, de la cathepsine L étaient plus élevées chez les anadromes que chez les résidents en août, conformément à ce qui était anticipé. Ces différences d'activité de la cathepsine L pourraient refléter les besoins énergétiques différents associés aux stratégies anadrome et résidente durant la montaison. En effet, dans le contexte de la rivière Laval, les anadromes sont confrontés à des conditions environnementales plus variables et doivent parcourir de plus grandes distances que les résidents pour atteindre leur site de frai. Globalement, les deux souches hybrides présentaient peu de réponses physiologiques additives, contrairement à ce qui était anticipé. Plusieurs traits physiologiques étaient héréditaires chez au moins une des souches pures. Chez les anadromes, les traits présentant des valeurs élevées d'héritabilité étaient le glycogène hépatique et l'expression du gène de la cathepsine L ($h^2 = 0,87$ et $0,72$, respectivement). Les héritabilités des activités spécifique et totale de la cathepsine L étaient modérées ($h^2 = 0,35$ et $0,44$, respectivement). Les valeurs d'héritabilité des résidents étaient faibles pour l'expression et les activités spécifique et totale de la cathepsine L ($h^2 = 0,06$, $0,08$ et $0,04$) et nulles pour toutes les réserves énergétiques hépatiques ($h^2 = 0,00$). Les variances des EBV étaient élevées pour le glycogène hépatique des anadromes ($\sigma^2 = 242,16$), mais faibles pour tous les autres traits physiologiques des deux souches pures. Les ombles anadromes et résidents sympatriques originaires de la rivière Laval présentaient des différences phénotypiques, ainsi que des valeurs d'héritabilité et des variances d'EBV contrastées pour des traits physiologiques liés à la migration et la reproduction. Les réponses des hybrides résultaient apparemment davantage d'effets génétiques non additifs qu'additifs. Des effets parentaux, notamment paternels, ont été mis en évidence pour certains des traits étudiés. Globalement, ces résultats indiquent une base génétique significative pour quelques traits liés à la reproduction et la migration chez les ombles anadromes et résidents, ainsi qu'un potentiel de réponse à la sélection différent pour les deux souches pures.

Mots clés : anadromes, cathepsine, glycogène, protéines, lipides, résidents, IGF-I, héritabilité

ABSTRACT

The aim of this study was to determine whether 1+ years old anadromous and freshwater resident brook charr reared under the same controlled experimental conditions, showed differences for traits associated with growth, sexual maturation, accumulation et utilization of hepatic and muscle energetic reserves, not only at the physiological level, but also at the gene expression level. This project also aimed to determine to which extent the studied physiological traits could be transmitted genetically, through heritability calculations. Physiological responses of reciprocal hybrids were also studied to determine the genetic basis of the studied traits. Anadromous (A) and resident (R) brook charr from the same river system were mated and four cross-types ($\text{♀A}\text{♂A}$, $\text{♀A}\text{♂R}$, $\text{♀R}\text{♂A}$, and $\text{♀R}\text{♂R}$) produced. Rearing conditions were identical from egg incubation to the age of 22 months. When fish reached 17 months of age, they were gradually (2‰ day^{-1}) transferred to estuarine sea water (final salinity 20‰) for the summer (June to August). The first objective of the study was to compare expression profiles of the IGF-I gene in anadromous and residents, and to determine if the responses of the hybrids were additive (or intermediate) relatively to these of pure cross-types. An increase in relative expression of the IGF-I gene occurred in residents, but not in anadromous, after saltwater transfer, which suggests the occurrence of quantitative genetic differences between both cross-types in the regulation of IGF-I expression. The responses of hybrids were similar to these of their paternal lines. The second objective was to study physiological responses of charr for traits related to sexual maturation, as well as utilization of energetic reserves, such as vitellogenin, glycogen, lipid and protein hepatic content, GSI and HSI, and to determine if those traits had a significant genetic basis, through heritability and EBV (estimated breeding values) variance calculations. Q_{ST} (quantitative genetic differentiation of phenotypic traits between populations) calculations on the studied traits were also made and compared to F_{ST} values calculated by Perry *et al.* (2005), to determine to which extent the observed physiological responses could be the result of selection or neutral genetic processes. In females, differences between anadromous and residents for hepatic reserves accumulation (mainly glycogen), HSI and hepatic vitellogenin content from June to November suggest different maturation rates and reproductive investment in both pure cross-types. In males, no difference in hepatic glycogen accumulation was observed in November, probably because of the relatively low cost of reproduction in males, regardless of life history strategy. Except for KF, Q_{ST} values were high (0.31 to 0.82) and generally higher than the estimate of neutral genetic variance ($F_{ST} = 0.15$), which suggests that divergent selective pressures contributed to maintain local adaptations associated with the anadromous and resident strategies in the Laval River. The third objective was to measure cathepsin L

enzymatic activity and gene expression and to measure utilization of energetic reserves in the epaxial muscle of charr. There was no cross-type effect for the relative expression of the cathepsin L gene. As expected, hepatic-specific and total cathepsin L enzymatic activities were higher in anadromous than in residents in August. Such differences in cathepsin L activity could reflect different energetic needs associated with the anadromous and resident strategies during upstream migration. Indeed, in the Laval River, anadromous fish experience most variable environmental conditions and must travel on longer distances than their anadromous counterparts to reach their spawning grounds. Overall, both hybrid cross-types showed few additive physiological responses, contrary to what was expected. Several traits were heritable in at least one pure strain. In anadromous fish, hepatic glycogen and expression of the cathepsin L gene had high heritabilities ($h^2 = 0.87$ and 0.72 respectively). Heritability estimates for hepatic-specific and total cathepsin L enzymatic activities were moderate ($h^2 = 0.35$ and 0.44 , respectively). Heritabilities in residents were low for expression and specific and total cathepsin L activities ($h^2 = 0.06$, 0.08 and 0.04) and null for all hepatic energetic reserves ($h^2 = 0.00$). Variances of EBV were high for hepatic glycogen in anadromous ($\sigma^2 = 242.16$), but low for all other traits in both pure cross-types. Sympatric anadromous and resident brook charr from the laval River showed phenotypic differences and contrasting variances of EBV and heritabilities for physiological traits related to migration and reproduction. Responses of both hybrids seemed to be related to nonadditive rather than additive genetic effects. Parental effects, such as sire effects, were found for some of the studied traits. Overall, these results indicate a significant genetic basis for some of the traits related to migration and reproduction, and various potential of response to selection for pure cross types.

Keywords : anadromous, residents, cathepsin, glycogen, proteins, IGF-I, heritability

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	ix
RÉSUMÉ.....	xv
ABSTRACT	xvii
TABLE DES MATIÈRES	xix
LISTE DES TABLEAUX.....	xxi
LISTE DES FIGURES.....	xxiii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES.....	xxv
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE 1 EXPRESSION DU GÈNE D'IGF-I DANS LE FOIE D'OMBLES DE FONTAINE (<i>SALVELINUS FONTINALIS</i>) ANADROMES, RÉSIDENTS ET HYBRIDES.....	19
1.1 RÉSUMÉ.....	19
1.2 EXPRESSION DU GÈNE D'IGF-I DANS LE FOIE D'OMBLES DE FONTAINE (<i>SALVELINUS FONTINALIS</i>) ANADROMES, RÉSIDENTS ET HYBRIDES.....	21
CHAPITRE 2 RÉPONSES PHYSIOLOGIQUES ET HÉRITABILITÉ DE TRAITS LIÉS À LA REPRODUCTION CHEZ DES OMBLES DE FONTAINE (<i>SALVELINUS FONTINALIS</i>) ANADROMES, RÉSIDENTS ET HYBRIDES.....	49
2.1 RÉSUMÉ.....	49

2.2	PHYSIOLOGICAL RESPONSES AND HERITABILITY OF ANADROMOUS, RESIDENT AND HYBRID BROOK CHARR (<i>SALVELINUS FONTINALIS</i>) FOR TRAITS RELATED TO REPRODUCTION.....	51
CHAPITRE 3 RÉPONSES PHYSIOLOGIQUES ET HÉRITABILITÉ DE TRAITS LIÉS À LA MIGRATION CHEZ DES OMBLES DE FONTAINE (<i>SALVELINUS FONTINALIS</i>) ANADROMES, RÉSIDENTS ET HYBRIDES.....		
3.1	RÉSUMÉ.....	95
3.2	PHYSIOLOGICAL RESPONSES AND HERITABILITY OF TRAITS RELATED TO MIGRATION IN ANADROMOUS, RESIDENT AND HYBRID BROOK CHARR (<i>SALVELINUS FONTINALIS</i>)	97
DISCUSSION GÉNÉRALE.....		129
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		141

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 : Percentage of gonadal maturation in 1+ female and male brook charr. Mean \pm SE. The range for each group is given in brackets.....	60
Tableau 2.2 : Condition factor (KF), gonadosomatic index (GSI), and hepatosomatic index (HSI) of 1+ female brook charr (mean \pm se).....	64
Tableau 2.3 : Condition factor (KF), gonadosomatic index (GSI), and hepatosomatic index (HSI) of 1+ male brook charr (mean \pm se).....	73
Tableau 2.4 : Heritability estimates ($h^2 \pm se$) and variance of breeding values (σ^2 EBV) of physiological traits measured in anadromous (AA) and resident (RR) 1+ brook charr during summer.....	78
Tableau 2.5 : Ratios of parental (dam and sire) variance on phenotypic variance in anadromous (AA) and resident (RR) 1+ brook charr during summer.....	78
Tableau 2.6 : Quantitative genetic variation in phenotype (Q_{ST}) of physiological traits measured in anadromous (AA) and resident (RR) 1+ brook charr after 14 days in salt water.....	79
Tableau 2.7 : Summary of differences between anadromous and resident brook charr for all the studied phenotypic traits.....	81
Tableau 3.1 : ANOVA statistics for cathepsin L expression and enzymatic activity, muscle water percentage, and ANCOVA statistics for muscle energetic reserve content	

of anadromous, resident and reciprocal hybrid brook charr in June and August. CT: cross-type.....	110
Tableau 3.2 : Heritability estimates ($h^2 \pm sd$) and variance of breeding values (σ^2 EBV) for physiological traits measured in anadromous (AA) and resident (RR) 1+ brook charr in August.....	114
Tableau 3.3 : Ratios of parental (dam and sire) variance on phenotypic variance in brook charr in August	116
Tableau 3.4 : Glycogen and lipid content of epaxial muscle ($mg\ g^{-1}$) in 1+ brook charr in June and August.....	119
Tableau 4.1 : Résumé des différences entre les anadromes et résidents pour les traits phénotypiques liés à la croissance, l'osmorégulation et la maturation sexuelle, et niveau d'héritabilité de ces traits	130

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Expression d'IGF-1 chez des ombres anadromes (AA), résidents (RR) et hybrides (AR, RA) 1 ⁺ avant leur transfert en eau de mer (en noir), après 14 jours en eau de mer (en noir hachuré), et à la fin de l'été (en gris).....	36
Figure 1.2 : Expression d'IGF-1 par famille chez des ombres anadromes (AA), résidents (RR) et hybrides (AR, RA) 1 ⁺ avant leur transfert en eau de mer, après 14 jours en eau de mer, et à la fin de l'été	38
Figure 2.1 : A. Body mass of anadromous, resident, and reciprocal hybrid female brook charr from June to November. B. Body mass of anadromous, resident, and reciprocal hybrid male brook charr from June to November.....	62
Figure 2.2 : Vitellogenin concentrations in mature female brook charr from June to November.....	65
Figure 2.3 : A. Hepatic glycogen content of female brook charr from June to November. B. Hepatic protein content of female brook charr from June to November	69
Figure 2.4 : Correlation between body mass and hepatic lipid content in brook charr	71
Figure 2.5 : A. Hepatic glycogen content of male brook charr from June to November. B. Hepatic protein content of male brook charr from June to November.	75
Figure 3.1 : Hepatic relative expression of cathepsin L gene in anadromous, resident, and reciprocal hybrids in June and August.....	108

Figure 3.2 : **A.** Specific hepatic cathepsin L enzyme activity in anadromous, resident, and reciprocal hybrid brook charr in June and August expressed in $\mu\text{M AMC (mg total hepatic protein)}^{-1}$. **B.** Total hepatic cathepsin L activity in anadromous, resident, and reciprocal hybrid brook charr, from June to August, expressed in $\mu\text{M AMC (g liver)}^{-1}$ 112

Figure 3.3 : Correlation between relative expression of cathepsin L and total hepatic cathepsin L activity.....115

Figure 3.4 : Muscle water content in anadromous, resident, and reciprocal hybrid brook charr in June and August.....117

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

AA	Ombles anadromes.
AR	Ombles hybrides anadrome/résident (mère anadrome et père résident).
ARN	Acide ribonucléique.
EBV	« Estimated breeding values » (ou variances additives estimées).
F_{ST}	Estimation de la variance génétique neutre.
IGF-I	Facteur de croissance insulinique.
IGS	Indice gonado-somatique. Il est calculé de la façon suivante: $IGS = GW (W - GW)^{-1} \times 100$, où W est la masse corporelle du poisson (en grammes) et GW est la masse de la gonade (en grammes).
IHS	Indice hépato-somatique. Il est calculé de la façon suivante: $IHS = LW (W - GW)^{-1} \times 100$, où W est la masse corporelle du poisson (en grammes) et LW est la masse du foie (en grammes).
KF	Facteur de condition de Fulton. Il est calculé de la façon suivante: $KF = (W L^{-3}) \times 100$, où W est la masse corporelle du poisson (en grammes) et L est la longueur à la fourche caudale (en centimètres).
Q_{ST}	Variation quantitative du phénotype. Elle est calculée de la façon suivante : $Q_{ST} = \sigma_{bw}^2 / (2 \sigma_{wn}^2 + \sigma_{bw}^2)$, où σ_{bw}^2 est la variance phénotypique entre les populations (anadromes et résidents) et σ_{wn}^2 la variance génétique quantitative entre les populations.

- RA** Ombles hybrides résident/anadrome (mère résidente et père anadrome).
- RR** Ombles résidents.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Stratégies et tactiques migratrices chez les salmonidés

L'adoption de stratégies migratrices différentes par des individus appartenant à une même espèce est un phénomène courant chez les téléostéens, et en particulier chez les salmonidés (Jonsson et Jonsson, 1993; Iwata, 1995; Boula *et al.*, 2002; Giger *et al.*, 2006; Thériault *et al.*, 2007a; D'Amelio et Wilson, 2008; Wysujack *et al.*, 2009; Curry *et al.*, 2010). L'anadromie, c'est-à-dire la migration des poissons de l'eau douce vers l'eau salée, suivie de leur retour en eau douce pour la reproduction (Thorpe, 1989), est une stratégie migratrice largement répandue chez les salmonidés (McCormick, 1994; Iwata, 1995; Yamamoto et Morita, 2002). Néanmoins, le comportement migratoire varie considérablement, autant en terme de distance et de fréquence de migration que de temps passé en eau douce avant la première migration, d'une espèce à l'autre, et même au sein d'une même espèce (McCormick, 1994; Thorpe, 1994; Iwata, 1995). Certaines espèces de salmonidés de l'ouest de l'Amérique du nord, comme le saumon rose (*Oncorhynchus gorbuscha*) et le saumon kéta (*Oncorhynchus keta*), sont exclusivement anadromes et migrent en mer à peine un ou deux mois après leur émergence de l'œuf (Hoar, 1988; Thorpe, 1989; McCormick, 1994). D'autres espèces, comme le saumon coho (*Oncorhynchus kisutch*) et le saumon Atlantique (*Salmo salar*) demeurent au moins un an en eau douce, puis migrent au printemps après avoir entrepris leur smoltification et demeurent au moins un an en mer (McCormick, 1994). Ces espèces comprennent aussi des individus demeurant en eau douce (résidents) et la durée du séjour en mer de leurs individus anadromes est variable (Thorpe, 1989). Enfin, d'autres salmonidés comme la truite brune (*Salmo trutta*), l'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) et l'omble chevalier

(*Salvelinus alpinus*) demeurent généralement plus d'une année (parfois trois ou davantage) en eau douce avant d'entreprendre des migrations de courte durée (deux à cinq mois) limitées à l'environnement côtier (McCormick, 1994). Ces espèces comprennent souvent des populations partiellement ou entièrement résidentes (McCormick, 1994). Des interactions complexes entre divers facteurs génétiques et environnementaux expliquent probablement le niveau de variation élevé dans l'adoption de stratégies ou de tactiques migratrices chez les salmonidés (Giger *et al.*, 2006). Il est question de tactiques migratrices différentes, plutôt que de stratégies différentes, lorsque des individus d'une même population adoptent des comportements distincts pour la migration.

Le pourcentage d'individus adoptant l'anadromie ou la résidence en eau douce est susceptible de varier en fonction de facteurs génétiques, des ressources alimentaires disponibles ou, dans certains cas, de la densité de population au sein des cours d'eau (Jonsson et Jonsson, 1993). En dépit des coûts énergétiques, du stress osmotique et du risque de prédation accru associés à la migration en eau de mer, l'anadromie permet généralement aux individus qui l'adoptent de croître plus rapidement, vraisemblablement en raison des ressources alimentaires plus importantes du milieu marin (Jonsson et Jonsson, 1993; Lenormand *et al.*, 2004). Wysujack *et al.* (2009) ont montré une augmentation du nombre de truites brunes anadromes dans un contexte de faible disponibilité de nourriture, ce qui tend à confirmer l'importance de ce facteur dans le choix de la stratégie ou de la tactique migratrice. Toutefois, quels sont les autres facteurs qui déterminent l'adoption d'une stratégie ou d'une tactique migratrice donnée chez les salmonidés?

Bases génétiques des stratégies migratrices

Le choix de la stratégie migratrice est en partie attribuable à des facteurs génétiques (Silverstein et Hershberger, 1992). L'utilisation de stratégies migratrices différentes par des poissons d'une même espèce reflète possiblement une divergence génotypique adaptative

découlant de pressions de sélection différentes au sein d'habitats hautement hétérogènes, sur le plan des caractéristiques physiques (débit moyen des cours d'eau, nature du substrat utilisé pour les sites de frai, salinité, température de l'eau, entre autres), dans le temps et l'espace (Perry *et al.*, 2005). Toutefois, jusqu'à quel point l'adoption d'une stratégie migratrice donnée est-elle déterminée génétiquement? Le calcul des valeurs d'héritabilité de plusieurs traits phénotypiques associés à une stratégie migratrice est l'un des outils pouvant être utilisés pour répondre à cette question.

La mesure de l'héritabilité d'un trait donné permet de déterminer jusqu'à quel point ce trait est déterminé par les gènes transmis par les parents, et donc transmissible d'une génération à l'autre (Falconer et Mackay, 1996). L'héritabilité détermine le degré de ressemblance entre individus apparentés et indique la proportion de la variance totale qui est attribuable aux différences de valeurs reproductives (« breeding values »; Falconer et Mackay, 1996). De façon mathématique, elle est exprimée par le ratio de la variance additive, c'est-à-dire la variance génétique des valeurs reproductives, sur la variance phénotypique (variance additive + variance environnementale) (Falconer et MacKay, 1996; Roff, 1997).

Plusieurs phénomènes génétiques, c'est-à-dire l'additivité, les effets parentaux, l'hétérosis (appelée aussi vigueur hybride) et la dépression de croisement, peuvent expliquer les réponses phénotypiques associées à un trait donné. La réponse d'un individu (ou d'une souche hybride) pour un trait phénotypique donné est additive lorsqu'elle est intermédiaire à celle des deux parents (ou souches parentales) (Falconer et Mackay, 1996). Il est question d'effets parentaux lorsque la réponse phénotypique d'un individu (ou d'une souche hybride) est similaire à celle d'un des deux parents (ou souches parentales). L'effet est maternel si la réponse phénotypique est similaire à celle de la mère, et paternel si la réponse est similaire à celle du père. La dépression de croisement est le phénomène qui se

produit lorsque la réponse phénotypique moyenne d'un croisement donné est inférieure à celle de ses deux parents (ou souches parentales) (Falconer et Mackay, 1996). Enfin, l'hétérosis est le phénomène inverse de la dépression de croisement, c'est-à-dire que la réponse phénotypique moyenne d'un croisement donné est supérieure à celle de ses deux parents (ou souches parentales) (Falconer et Mackay, 1996).

Le degré de différenciation génétique entre individus adoptant des stratégies migratrices différentes est déterminé non seulement par l'héritabilité de leurs traits phénotypiques et les phénomènes génétiques mentionnés, mais aussi par la taille des populations auxquelles ils appartiennent et par le flux génique. En effet, la variation génétique tend à être réduite au sein de populations de petite taille ou lorsque le flux génique entre individus est intense (Jensen *et al.*, 2008). Dans un tel contexte, l'adoption d'une stratégie ou d'une tactique migratrice donnée dépend probablement davantage de la capacité des individus à modifier différents traits phénotypiques (taille, morphologie, niveau de réserves énergétiques ou autres) en fonction des conditions environnementales.

Influence de l'environnement sur le choix de la tactique migratrice

Dans le cas où les deux comportements (migratoire et non migratoire) sont observés au sein d'un même pool génétique, on peut se demander quels sont les facteurs à l'origine du déclenchement du comportement migratoire. Un facteur potentiellement à l'origine de l'adoption de tactiques migratrices différentes est la présence d'un haut niveau de plasticité phénotypique au sein d'une population donnée. La plasticité phénotypique peut être définie comme un changement du « phénotype moyen » exprimé par un génotype donné en réponse à des changements environnementaux temporels ou spatiaux ayant des effets sur le succès reproducteur des individus (Falconer et MacKay, 1996; Piché *et al.*, 2008). Par exemple, les individus dont le taux de croissance (un trait variant grandement en fonction des conditions environnementales locales) est supérieur à un seuil déterminé génétiquement

seraient susceptibles d'adopter une tactique migratrice donnée (la tactique anadrome, par exemple), alors que les individus dont le taux de croissance est inférieur à ce seuil adopteraient une autre tactique (Piché *et al.*, 2008).

Fonctions physiologiques associées au choix de la stratégie ou de la tactique migratrice

Bien que le bagage génétique des individus et l'environnement soient des éléments déterminants pour l'adoption d'une stratégie ou tactique migratrice donnée, ce ne sont pas les seuls facteurs qui entrent en ligne de compte. En effet, plusieurs auteurs ont suggéré que, chez les salmonidés, la « décision » de migrer en eau de mer ou de demeurer en eau douce était déterminée par la condition physiologique du poisson (Rowe *et al.*, 1991; Kadri *et al.*, 1996; Adams et Huntingford, 1997). Ainsi, les individus atteignant des seuils spécifiques pour la croissance et l'accumulation de réserves énergétiques entreprendraient le processus de maturation sexuelle (Rowe *et al.*, 1991; Thorpe, 1994; Silverstein *et al.*, 1998).

L'accumulation de réserves énergétiques dans le foie et les muscles est essentielle pour assurer le déclenchement et le maintien des processus physiologiques impliqués dans la croissance corporelle, la maturation sexuelle et la migration (Wiegand, 1996). Les lipides constituent la principale source d'énergie pour la maturation sexuelle chez plusieurs espèces de salmonidés (Kadri *et al.*, 1996; Adams and Huntingford, 1997) et jouent également un rôle structural très important, notamment dans les membranes cellulaires. Bien que l'utilisation du glycogène comme source d'énergie soit assez peu importante dans la plupart des tissus de certains salmonidés, ce type de réserves joue tout de même un rôle important pour alimenter le métabolisme (Panserat et Kaushik, 2002) et la maturation sexuelle. Quant aux protéines, elles jouent non seulement un rôle dans le métabolisme, mais aussi un rôle structural dans la synthèse et le développement des cellules gonadiques

(Mommsen, 2004). Les protéines sont également impliquées pour une large part dans la formation de la vitellogénine (Wiegand, 1996).

Les salmonidés anadromes et résidents sont susceptibles de présenter plusieurs différences d'allocation des réserves énergétiques. Ainsi, il a été démontré que des saumons masou (*Oncorhynchus masou*) mâles résidents, qui adoptent une stratégie de fécondation furtive, allouent une plus forte proportion de leur énergie à la production de gamètes que les mâles anadromes (Koseki et Maekawa, 2002), ce qui se traduit par un indice gonadosomatique (IGS) plus élevé ($10,6 \pm 2,6 \%$ et $13,1 \pm 3,1 \%$ pour les résidents, comparativement à $6,7 \pm 1,6 \%$ et $6,4 \pm 1,5 \%$ pour les anadromes des deux populations étudiées; Koseki et Maekawa, 2002). Foote *et al.* (1997) ont également démontré des valeurs d'IGS environ deux fois plus élevées chez des saumons rouges (*Oncorhynchus nerka*) mâles maturant en eau douce que leurs congénères anadromes. De telles différences ne se rencontrent toutefois pas systématiquement au sein des populations polymorphes de salmonidés. En effet, Jonsson et Jonsson (1997) ont observé des IGS similaires chez des truites brunes mâles anadromes et résidentes. L'une des principales étapes de la maturation sexuelle des salmonidés femelles est la vitellogenèse, durant laquelle est synthétisée la vitellogénine, l'un des principaux précurseurs des protéines comprises dans le vitellus des oeufs (Mouchel *et al.*, 1997; Buisine *et al.*, 2002; Fujita *et al.*, 2005), et son accumulation dans les ovocytes en développement. Cette accumulation de réserves permet une croissance rapide des ovocytes (Brooks *et al.*, 1997; Berg *et al.*, 2004), qui se traduit généralement par une augmentation de l'IGS des poissons (Berg *et al.*, 2004). La vitellogenèse est une étape cruciale dans le développement des ovocytes: chez la truite arc-en-ciel, le vitellus compte pour 80 % de la taille finale de l'oeuf (Reis-Henriques *et al.*, 2000; Kwon *et al.*, 2001) et, durant les 60 jours qui suivent la fécondation, l'embryon dépend entièrement de ce vitellus pour assurer sa croissance et son alimentation (Kwon *et al.*, 2001). Les oestrogènes comme le 17β -oestradiol stimulent la synthèse, dans le foie, de la vitellogénine (Flouriot *et al.*, 1997; Pakdel *et al.*, 1997; Mori *et al.*, 1998; Menuet *et al.*, 2001; Atteke *et al.*, 2003). La

vitellogénine est ensuite transportée dans le sang vers les gonades, et incorporée dans les ovocytes en développement (Arukwe *et al.*, 2002; Fujita *et al.*, 2004). Elle est ensuite dégradée par des enzymes protéolytiques, telles que la cathepsine L, pour aider au développement des embryons (Kwon *et al.*, 2001).

L'activité de la cathepsine L et de plusieurs autres enzymes, ainsi que l'expression des gènes correspondants, augmente durant la montaison de plusieurs espèces de salmonidés (Ando *et al.*, 1986; Yamashita et Konagaya, 1990; Nielsen et Nielsen, 2001; Mommsen, 2004; Salem *et al.*, 2006). La cathepsine L est une enzyme protéolytique très active dans les muscles et le foie des poissons, qui joue vraisemblablement un rôle important non seulement dans la protéolyse de la vitellogénine, mais aussi dans le renouvellement des protéines des myofibrilles (Nielsen et Nielsen, 2001). En effet, le métabolisme des protéines est généralement relativement plus élevé durant le cycle reproducteur des poissons, et une proportion importante des protéines utilisées pour le développement des gonades dérive des protéines musculaires (Nielsen et Nielsen, 2001). Les protéines musculaires dégradées par l'entremise des cathepsines sont également utilisées comme source d'énergie durant la migration précédant la ponte, lorsque les poissons cessent de s'alimenter (Yamashita et Konagaya, 1990). Le pourcentage d'eau des muscles de salmonidés en migration est susceptible d'augmenter, puisque les protéines musculaires dégradées par les cathepsines sont souvent remplacées par de l'eau afin de maintenir la forme et la masse des muscles (Mommsen, 2004).

La croissance corporelle est l'un des facteurs les plus susceptibles d'influencer l'adoption d'une stratégie migratrice. En effet, il a été démontré que, chez plusieurs espèces de salmonidés, l'adoption d'une taille minimale donnée était nécessaire pour entreprendre le processus de smoltification (Yamamoto et Morita, 2002), c'est-à-dire l'ensemble des transformations physiologiques nécessaires pour le passage de l'eau douce à l'eau salée qui

s'effectue au cours de la migration. Les individus n'atteignant pas la taille requise au moment où la smoltification s'amorce normalement demeureraient en eau douce ou retarderaient la smoltification jusqu'à l'atteinte de la taille nécessaire (Yamamoto et Morita, 2002). La base génétique de la croissance corporelle est vraisemblablement importante, puisque des valeurs d'héritabilité élevées pour la masse corporelle ont été observées chez des ombles de fontaine anadromes et résidents ($h^2 = 0,91 \pm 0,34$ et $0,78 \pm 0,32$, respectivement; Bastien *et al.*, en prép.). Chez les salmonidés en général, la croissance corporelle est contrôlée par l'hormone de croissance (GH) (Kopchick et Andry, 2000; Calduch-Giner *et al.*, 2001; Fukada *et al.*, 2004; Larsen *et al.*, 2004). La GH peut agir de façon indirecte sur la croissance en stimulant la synthèse et la sécrétion de deux peptides mitogènes, les facteurs de croissance insuliniques I et II (IGF-I et IGF-II) (Palamarchuk *et al.*, 1997; Shimizu *et al.*, 1999; Palamarchuk *et al.*, 2002; Beckman *et al.*, 2004; Pierce *et al.*, 2004; Volkoff *et al.*, 2005). Étant donné qu'IGF-I joue non seulement un rôle important dans la croissance, mais aussi dans d'autres fonctions physiologiques telles que le métabolisme des réserves énergétiques et la maturation sexuelle (Méndez *et al.*, 2001; Nordgarden *et al.*, 2005), sa production et l'expression du gène correspondant sont susceptibles de varier significativement en fonction de la stratégie migratrice adoptée par les poissons.

Stratégies semelpares et itéropares : implications physiologiques

Plusieurs espèces de salmonidés endémiques de l'ouest de l'Amérique du nord adoptant la stratégie anadrome, tels que le saumon rouge, le saumon chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) et le saumon coho, demeurent généralement en eau de mer durant une période de 1 à 4 ans (Mommsen *et al.*, 1980; Mommsen, 2004; Miller *et al.*, 2009). Durant la période de montaison, ces espèces migrent sur des centaines ou des milliers de kilomètres avant de parvenir à leurs sites de frai en eau douce (Foerster, 1968; Mommsen *et al.*, 1980; Mommsen, 2004; Magnoni *et al.*, 2006). En outre, ces saumons

sont semelpares, c'est-à-dire qu'ils ne se reproduisent qu'une seule fois avant de mourir (Mommsen *et al.*, 1980; Mommsen, 2004; Miller *et al.*, 2009).

Contrairement aux salmonidés semelpares de l'ouest de l'Amérique du nord, les salmonidés de l'Europe et de l'est de l'Amérique du nord, notamment le saumon Atlantique, la truite brune, la truite arc-en-ciel et les ombles, sont généralement itéropares, c'est-à-dire qu'ils sont susceptibles de se reproduire plusieurs fois au cours de leur existence (Salem *et al.*, 2006).

Du point de vue de l'allocation des réserves énergétiques, l'une des principales différences entre les salmonidés anadromes semelpares et itéropares est la nécessité pour ces derniers de gérer leur énergie à plus long terme, c'est-à-dire au-delà du premier épisode de reproduction. En effet, les salmonidés anadromes itéropares doivent dépenser de l'énergie non seulement pour déclencher la maturation sexuelle et se déplacer de l'eau salée vers leurs sites de frai en eau douce, mais aussi maintenir un niveau de réserves suffisant pour survivre à la saison hivernale et se reproduire au cours des années suivantes (Lenormand *et al.*, 2004). Ainsi, les salmonidés semelpares investissent une plus forte proportion de leurs réserves énergétiques dans la production de gamètes que les salmonidés itéropares (Salem *et al.*, 2006).

Les coûts énergétiques de la migration de reproduction des individus anadromes sont largement dépendants de la distance de migration (Kinnison *et al.*, 2003), et vraisemblablement du niveau d'élévation de la rivière parcourue (Jonsson et Jonsson, 1993; Mommsen, 2004). En effet, il a été démontré, en particulier chez les espèces de saumon du Pacifique durant la montaison, que les longues migrations exigent l'utilisation d'une proportion importante (parfois plus de 50 %; Brett, 1995) des réserves énergétiques

emmagasinées dans plusieurs tissus, en particulier les muscles blancs et rouges (Glebe et Leggett, 1981; Kiessling *et al.*, 2004; Mommsen, 2004; Miller *et al.*, 2009; Nadeau *et al.*, 2010). Les contraintes énergétiques associées à la migration de reproduction sont vraisemblablement moins importantes chez les salmonidés itéropares, tels que l'omble de fontaine, que chez les espèces du Pacifique, étant donné que les migrations de cette espèce se produisent généralement sur des distances relativement courtes et durant une période relativement brève. Malgré cela, les salmonidés anadromes itéropares, ont besoin d'un apport énergétique non négligeable pour subvenir aux coûts liés à la migration (c'est-à-dire la nage) (Jonsson et Jonsson, 1993), à la maturation sexuelle et au métabolisme durant la migration.

Un exemple de salmonidé itéropare : l'omble de fontaine

Les ombles de fontaine anadromes effectuent des migrations saisonnières annuelles (McCormick, 1994; Curry *et al.*, 2006; Curry *et al.*, 2010). Habituellement, la dévalaison des ombles anadromes se produit au printemps (vers les mois d'avril ou mai; Dutil et Power, 1980; Lenormand *et al.*, 2004). La migration des ombles se limite aux eaux estuariennes et côtières et dure de un à cinq mois, avant le retour vers les rivières pour la reproduction durant l'automne (Dutil et Power, 1980; Power, 1980; Castonguay *et al.*, 1982; Doyon *et al.*, 1991; McCormick, 1994; Jones *et al.*, 1997; Boula *et al.*, 2002; Lenormand *et al.*, 2004; Curry *et al.*, 2006).

Chez l'omble de fontaine, les patrons de migration, mais aussi l'âge et la taille à la première maturation sexuelle, sont très variables (Boula *et al.*, 2002), non seulement en fonction de la latitude et de la rivière d'origine, mais aussi des caractéristiques morphologiques et physiologiques des individus d'une même population. Cette variabilité est attribuable soit à la plasticité phénotypique considérable des ombles, qui leur permet de modifier leur physiologie et leur comportement en fonction du changement des conditions

environnementales (Hutchings, 1996), soit à des adaptations aux conditions locales. Toutefois, chez cette espèce comme chez les autres salmonidés qui entreprennent plusieurs migrations au cours de leur existence, la maturation précoce tend à retarder, ou même parfois à inhiber, la migration en eau de mer, sans en exclure la possibilité (Whalen et Parrish, 1999; Baum *et al.*, 2004). Cela explique sans doute pourquoi les salmonidés ayant atteint la maturation sexuelle en eau douce adoptent en fait très rarement la stratégie anadrome (Koseki et Maekawa, 2002). Certaines populations d'ombles de fontaine, en particulier celles des régions septentrionales, sont essentiellement anadromes (Castonguay *et al.*, 1982; Besner et Pelletier, 1991; Doyon *et al.*, 1991; Boula *et al.*, 2002), alors que d'autres demeurent en eau douce, dans leur cours d'eau d'origine, durant toute leur vie (comportement résident) (Scott et Crossman, 1990).

Certaines rivières, telle que la rivière Sainte-Marguerite, un affluent de la rivière Saguenay (au Québec), comprennent des individus des deux formes vivant en sympatrie ou en parapatrie, une partie des ombles adoptant la tactique anadrome et les autres demeurant en eau douce (Morinville et Rasmussen, 2003, Thériault *et al.*, 2007a). Les anadromes et résidents de cette rivière appartiendraient à une même population, puisque des épisodes de reproduction entre les deux formes et la production de descendants viables ont été observés (Thériault *et al.*, 2007a). Il semble que la coexistence de formes anadromes et résidentes appartenant à une même population soit une situation relativement courante chez l'omble de fontaine (Curry *et al.*, 2010), mais des cas d'ombles résidents et anadromes vivant en sympatrie ou en parapatrie dans une rivière et constituant apparemment des formes génétiquement distinctes ont été signalés (Boula *et al.*, 2002). Un exemple de ce type est celui de la rivière Laval, située à proximité de Forestville sur la côte nord de l'estuaire maritime du Saint-Laurent (Boula *et al.*, 2002).

Le cas de la rivière Laval

Les ombles de fontaine anadromes de la rivière Laval effectuent généralement des migrations de quelques mois dans l'estuaire de la rivière, à proximité de l'embouchure (Curry *et al.*, 2006). Ils quittent rapidement la rivière au printemps, vers les mois d'avril-mai, au moment où la température de l'eau de la rivière commence à augmenter (Curry *et al.*, 2006). Les conditions moyennes de température et de salinité dans les habitats des ombles au sein de l'estuaire de la rivière Laval lors de leur migration estivale étaient de 10°C et 27, tel que démontré dans une étude utilisant des suivis télémétriques (Curry *et al.*, 2006). Il est possible que les ombles anadromes de la rivière Laval demeurent à proximité de leur rivière en raison des conditions environnementales de l'estuaire maritime du Saint-Laurent, défavorables pour l'espèce (Curry *et al.*, 2006). En effet, il a été démontré que l'exposition à des eaux salées froides (2,5 °C) au mois de juin, d'une température similaire à celles retrouvées dans le Saint-Laurent à cette période de l'année, cause un stress important et une forte mortalité chez des ombles de fontaine domestiques ayant été transférés directement de l'eau douce à l'eau de mer froide (Claireaux et Audet, 2000).

Plusieurs études sur les ombles de fontaine anadromes et résidents vivant en parapatrie au sein de la rivière Laval tendent à démontrer que les résidents et les anadromes de cette rivière constituent des populations distinctes (Boula *et al.*, 2002; Perry *et al.*, 2005; Curry *et al.*, 2010). En effet, Perry *et al.* (2005) ont montré que plusieurs traits morphologiques liés à la croissance et mesurés après l'éclosion, mais avant la résorption du sac vitellin, présentaient une divergence génétique quantitative, basée sur la variance génétique maternelle, élevée ($Q_{ST} > 0,4$) entre des individus anadromes et résidents. Selon ces auteurs, les divergences quantitatives observées semblaient résulter de pressions de sélection directionnelles, et étaient donc vraisemblablement adaptatives (Perry *et al.*, 2005). Ces divergences dépendaient également du stade ontogénique, puisque des valeurs de Q_{ST} , et donc de divergence génétique, quasi nulles ont été mesurées pour les mêmes traits après la résorption du sac vitellin (Perry *et al.*, 2005).

Des différences physiologiques pour des traits reliés à l'osmorégulation, tels que l'activité Na^+/K^+ ATPasique, l'osmolarité plasmatique et la T3 (hormone thyroïdienne), ont été observées entre des ombles anadromes et résidents d'âge 1+ produits en conditions contrôlées et élevés dans les mêmes conditions expérimentales, avant et après leur transfert en eau de mer, ainsi qu'après leur retour en eau douce (Bastien, 2010). De façon générale, les ombles résidents ont eu plus de difficulté à s'adapter à l'eau de mer que les ombles anadromes, ce qui se traduisait notamment par une augmentation des valeurs d'osmolarité plasmatique chez les résidents après leur transfert en eau de mer (Bastien, 2010). Le fait que de telles différences aient été observées bien que les anadromes et les résidents aient été soumis aux mêmes conditions expérimentales suggère que ces différences avaient une base génétique importante. Les valeurs d'héritabilité souvent différentes entre anadromes et résidents pour les traits mentionnés confortaient apparemment cette hypothèse.

Objectif général

L'une des questions auxquelles les études précédentes sur les ombles de fontaine de la rivière Laval n'ont pas permis de répondre était celle de savoir si des anadromes et des résidents élevés dans les mêmes conditions expérimentales présentaient des différences physiologiques sur le plan de la maturation sexuelle et des fonctions physiologiques connexes, telles que l'utilisation des réserves énergétiques. Ces études n'ont pas non plus permis de déterminer les niveaux d'expression des gènes associés à ces fonctions, et si d'éventuelles différences entre ombles résidents et anadromes pouvaient survenir au moment de la période de frai, soit en novembre-décembre. Mon projet de recherche a été entrepris dans le but de répondre à ces questions.

Le principal objectif de ce projet était de déterminer si des ombles de fontaine anadromes et résidents d'âge 1+ élevés en milieu contrôlé, dans les mêmes conditions expérimentales, présentaient des différences liées à la croissance, la maturation sexuelle,

l'accumulation et l'utilisation des réserves énergétiques hépatiques et musculaires, non seulement sur le plan physiologique, mais aussi sur le plan de l'expression de gènes associés à ces fonctions. Ce projet visait également à déterminer jusqu'à quel point les traits physiologiques étudiés étaient génétiquement transmissibles, par l'entremise de calculs d'héritabilité. Les réponses physiologiques d'hybrides réciproques ont également été étudiées afin de déterminer les bases génétiques (effets génétiques additifs ou parentaux, par exemple) des traits étudiés.

Objectifs spécifiques

De façon plus spécifique, le premier chapitre de ma thèse visait à mesurer, chez les ombles issus de la rivière Laval, l'expression d'IGF-I, l'un des principaux gènes impliqués dans la croissance corporelle, mais aussi dans d'autres fonctions physiologiques telles que l'adaptation à l'eau de mer et le métabolisme des réserves énergétiques (Méndez *et al.*, 2001; Nordgarden *et al.*, 2005), chez des ombles résidents, anadromes et hybrides réciproques, avant et après leur transfert en eau de mer, ainsi qu'après leur retour en eau douce. Nous avons émis l'hypothèse qu'IGF-I était plus fortement exprimé chez les anadromes que chez les résidents après le transfert en eau de mer, puisque la migration en eau salée est essentiellement une migration trophique.

Le second chapitre de la thèse avait pour objectif d'étudier les réponses physiologiques des ombles pour des traits liés à la maturation sexuelle et à l'utilisation des réserves énergétiques, tels que la concentration hépatique de vitellogénine, de glycogène, de lipides et de protéines, l'indice gonado-somatique et l'indice hépato-somatique. La mesure de ces traits physiologiques a été effectuée afin d'évaluer si les ombles résidents, anadromes et hybrides réciproques présentaient des différences sur le plan de l'investissement reproducteur, et de quelle façon cet investissement évoluait dans le temps, lorsqu'ils étaient soumis aux mêmes conditions environnementales. Des calculs de Q_{ST} ont

également été effectués sur les traits étudiés et comparés aux valeurs de Q_{ST} et de F_{ST} calculées par Perry *et al.* (2005), afin de déterminer jusqu'à quel point les réponses physiologiques observées pouvaient être attribuables à la sélection ou à des processus génétiques neutres (dérive génétique, mutations et migration).

Enfin, le troisième chapitre de la thèse avait pour objectif de mesurer l'activité enzymatique de la cathepsine L, une enzyme protéolytique particulièrement active au cours de la montaison, et de mesurer l'utilisation des réserves énergétiques dans le muscle épaxial des ombles. Nous avons émis l'hypothèse que l'activité enzymatique de la cathepsine L était plus élevée chez les anadromes que chez les résidents, étant donné le rôle de cette enzyme lors des migrations migratrices. Nous voulions également vérifier si les différences potentielles d'activité enzymatique de la cathepsine L entre les anadromes et les résidents se traduisaient par des différences similaires d'expression du gène correspondant.

CHAPITRE 1
EXPRESSION DU GÈNE D'IGF-I DANS LE FOIE D'OMBLES DE FONTAINE
(*SALVELINUS FONTINALIS*) ANADROMES, RÉSIDENTS ET HYBRIDES

1.1 RÉSUMÉ

L'objectif de cette étude était de comparer des profils d'expression d'IGF-I dans le foie d'ombles de fontaines anadromes, résidents et hybrides originaires de la rivière Laval, au Québec, mais tous élevés en eau douce de l'éclosion jusqu'à leur transfert en eau de mer, en fonction du type de croisement, de la famille et du sexe. J'ai également vérifié si l'expression d'IGF-I possédait une base génétique importante, par des calculs d'héritabilité, et de déterminer la nature des effets génétiques impliqués (additifs ou parentaux). Des ombles de fontaine anadromes (A) et résidents (R) provenant du même bassin hydrographique ont été utilisés pour produire quatre types de croisements ($\text{♀A}\text{♂A}$, $\text{♀A}\text{♂R}$, $\text{♀R}\text{♂A}$, et $\text{♀R}\text{♂R}$). Les conditions d'élevage étaient identiques, de l'incubation des oeufs jusqu'à l'âge de 22 mois. Avant transfert en eau de mer, l'expression hépatique d'IGF-I ne différait pas significativement d'un croisement à l'autre. Après 14 jours en eau de mer, l'expression d'IGF-I s'est avérée significativement plus élevée chez les ombles RR par rapport au niveau observé en eau douce alors qu'aucune augmentation significative de l'expression d'IGF-I ne s'est produite chez les ombles anadromes durant la même période. Étant donné que le patron général d'expression d'IGF-I restait toutefois similaire entre les croisements, soit l'intensité de cette hausse était moindre chez les anadromes, soit elle était masquée par la forte variabilité des réponses d'expression pour cette souche pure. Ces résultats pourraient aussi indiquer une plus grande nécessité d'augmenter la tolérance à la salinité pour les résidents et les hybrides résidents anadromes. De plus, les valeurs d'héritabilité de l'expression d'IGF-I différaient nettement entre les croisements purs. Ainsi l'héritabilité était significative et élevée chez les anadromes ($h^2 = 0,58 \pm 0,38$) alors qu'elle

était pratiquement nulle ($h^2 = 0,00 \pm 0,00$) chez les résidents. Les réponses des hybrides se sont avérées similaires à celles de leurs lignées paternelles. Toutefois, les faibles ratios de variance additive maternelle ou paternelle sur la variance phénotypique de l'expression d'IGF-I tendaient à démontrer que les effets parentaux étaient modestes relativement aux effets génétiques additifs pour ce trait. L'expression d'IGF-I chez les poissons échantillonnés à la fin de l'été, après leur retour en eau douce, était généralement plus faible qu'après le transfert en eau de mer, et ce pour tous les croisements. Des différences d'expression d'IGF-I entre les familles ont été observées, avant et après le transfert en eau de mer et après le retour des poissons en eau douce, ce qui pourrait être lié à la variation interfamiliale de plusieurs autres traits morphologiques et physiologiques comme la masse corporelle, le taux de croissance moyen et l'indice hépato-somatique. Enfin, l'expression d'IGF-I était globalement plus élevée chez les mâles que chez les femelles. Dans l'ensemble, ces résultats indiquent qu'il existe des différences génétiques quantitatives entre ombles de fontaines résidents et anadromes de la Rivière laval. Cependant, la valeur adaptative de ces différences reste à établir.

1.2 EXPRESSION DU GÈNE D'IGF-I DANS LE FOIE D'OMBLES DE FONTAINE (*SALVELINUS FONTINALIS*) ANADROMES, RÉSIDENTS ET HYBRIDES

INTRODUCTION

Les habitats fréquentés par l'omble de fontaine sont hautement hétérogènes, dans le temps et l'espace, sur le plan des caractéristiques physiques, telles que la température, le débit moyen des cours d'eau, la nature du substrat utilisé pour les sites de frai, entre autres (Scott et Crossman, 1990). L'utilisation d'habitats différents peut impliquer la présence d'adaptations spécifiques pour s'y développer et se reproduire adéquatement. Cependant, un autre facteur potentiellement important pour cette utilisation d'habitats variables est la plasticité phénotypique considérable des ombles, qui leur permet d'adapter leur morphologie, leur physiologie (par exemple leur taux de croissance) et leur comportement à un large éventail de conditions environnementales (Hutchings, 1996).

Chez l'omble de fontaine, comme chez d'autres espèces de salmonidés, les stratégies migratrices, ainsi que les traits physiologiques qui y sont rattachés, varient considérablement entre les populations (Boula *et al.*, 2002) ou encore au sein d'une même population (on parle alors de tactique migratrice; Jonsson et Jonsson, 1993; Morinville et Rasmussen, 2003). Chez cette espèce, il n'existe apparemment aucune population

strictement anadrome (Curry *et al.*, 2010). Au Québec, la rivière Sainte-Marguerite (Morinville et Rasmussen, 2003; Thériault et Dodson, 2003; Lenormand *et al.*, 2004; Thériault *et al.*, 2007a) et la rivière Laval (Boula *et al.*, 2002; Castric et Bernatchez, 2003; Courtemanche *et al.*, 2006; Curry *et al.*, 2006), entre autres, figurent parmi les systèmes au sein desquels les formes anadrome et résidente coexistent. Sur la rivière Laval, anadromes et résidents constituent deux populations génétiques différentes vivant en sympatrie (Boula *et al.*, 2002; Castric et Bernatchez, 2003; Curry *et al.*, 2010); on est donc en présence de populations exhibant des stratégies migratrices différentes. Au contraire, sur la rivière Sainte-Marguerite, résidents et anadromes font partie d'une seule population génétique (Morinville et Rasmussen, 2003; Thériault et Dodson, 2003) et les différents individus adoptent donc des tactiques migratrices différentes.

La présence de tactiques migratrices différentes pourrait être liée à la croissance corporelle. Ainsi, les individus dont le taux de croissance corporelle est supérieur à un seuil déterminé génétiquement seraient susceptibles d'adopter une tactique reproductrice donnée (dont la tactique anadrome), alors que les individus dont le taux de croissance est inférieur à ce seuil adopteraient une autre tactique (Piché *et al.*, 2008). Thériault et Dodson (2003) ont montré que, dans la rivière Sainte-Marguerite, les ombles de plus grande taille tendaient à migrer plus tôt que ceux de plus petite taille, vraisemblablement en raison d'un coût de migration relativement plus élevé pour ces derniers. Par ailleurs, dans le cas de populations résidentes et anadromes différenciées, l'adoption de stratégies migratrices différentes par

les ombles de fontaine refléterait vraisemblablement des divergences adaptatives résultant de pressions de sélection différentes au sein des habitats hautement hétérogènes et variables fréquentés par celles-ci (Hendry *et al.*, 2004; Perry *et al.*, 2005). Les ombles anadromes, occupant des habitats au sein desquels la vitesse du courant et la disponibilité des ressources alimentaires seraient supérieures à celles au sein des habitats occupés par les résidents, auraient des coûts métaboliques, et donc une consommation de nourriture, plus importants que ceux des résidents (Chernoff et Curry, 2007). Dans ce contexte, la croissance des anadromes serait supérieure à celle des résidents malgré les dépenses énergétiques associées à l'utilisation d'habitats à vitesse plus élevée (Chernoff et Curry, 2007).

Tel qu'indiqué précédemment, la croissance corporelle est l'un des traits physiologiques susceptibles de différencier anadromes et résidents. En effet, chez plusieurs espèces de salmonidés, dont l'omble de fontaine, l'atteinte d'un seuil de taille minimal est nécessaire pour entreprendre les changements physiologiques associés à l'osmorégulation en eau de mer (Naiman *et al.*, 1987; McCormick, 1994; Curry *et al.*, 2010). Ainsi, les individus n'ayant pas atteint le seuil de taille minimal requis devraient retarder leur migration en eau de mer et demeurer en eau douce une année supplémentaire. La croissance est donc un facteur important à étudier pour comprendre les enjeux physiologiques associés au mode de vie anadrome.

Chez les salmonidés, comme chez les autres vertébrés, la croissance corporelle est principalement régulée par l'hormone de croissance (GH) (Sakamoto et Hirano, 1993; Kopchick et Andry, 2000; Caiduch-Giner *et al.*, 2001) et les facteurs de croissance insuliniques I et II (IGF-I et IGF-II) (Palamarchuk *et al.*, 1997; Shimizu *et al.*, 1999; Beckman *et al.*, 2004). IGF-I est un peptide synthétisé dans le foie sous l'action de la GH (Jones et Clemmons, 1995; Vong *et al.*, 2003; Jentoft *et al.*, 2004), mais aussi dans plusieurs autres tissus, tels que les muscles, l'intestin et les gonades (Jones et Clemmons, 1995; Wood *et al.*, 2005). L'IGF-I produit par le foie semble principalement agir de façon endocrine (Björnsson *et al.*, 2002). En revanche, l'IGF-I produit dans les autres tissus, tels que les branchies et les muscles, est davantage susceptible d'agir localement, de façon paracrine ou autocrine (D'Ercole *et al.*, 1984; Reinecke *et al.*, 1997; Jentoft *et al.*, 2004) et pas nécessairement sous contrôle de la GH (Vong *et al.*, 2003). Plusieurs facteurs externes, tels que le statut nutritionnel (Duan, 1998; Baños *et al.*, 1999; Aas-Hansen *et al.*, 2005) et la photopériode (Björnsson *et al.*, 1994), influencent la régulation de l'axe GH/IGF-I. La majorité des fonctions de la GH, en particulier celles liées à la croissance et au développement des tissus (Björnsson *et al.*, 2002; Shimizu *et al.*, 2003; Vong *et al.*, 2003), semblent s'exercer par l'entremise d'IGF-I (Jones et Clemmons, 1995; Duan, 1997). IGF-I peut également exercer une rétroaction négative sur la sécrétion de GH par l'hypophyse (Larsen *et al.*, 2004; Cameron *et al.*, 2005).

IGF-I exerce également plusieurs autres fonctions physiologiques importantes, telles que la modulation du métabolisme (Méndez *et al.*, 2001; Nordgarden *et al.*, 2005), de l'adaptation à l'eau de mer et de la réponse immunitaire (Björnsson *et al.*, 2002). De plus, IGF-I joue un rôle primordial dans la maturation sexuelle, en stimulant le développement gonadique (Le Gac *et al.*, 1993; Duan et Xu, 2005; Morita et Fukuwaka, 2006). Sachant que plusieurs études ont établi des liens entre croissance et maturité sexuelle chez les salmonidés (Shearer et Swanson, 2000; Wilson *et al.*, 2003), l'implication d'IGF-I dans la régulation de ces deux composantes revêt un intérêt particulier dans la comparaison des stratégies migratrices. De plus, l'action d'IGF-I semble relativement rapide et prolongée. Ainsi, l'IGF-I libéré dans le plasma se lie à des protéines ayant une affinité élevée pour les IGF (IGFBP) (Duan, 1997; Shimizu *et al.*, 1999; Duan, 2002). Ces protéines augmentent considérablement la demi-vie d'IGF-I (de moins de 10 minutes à 12-15 heures) (Jones et Clemmons, 1995) et contrôlent sa disponibilité pour les récepteurs membranaires auxquels il se lie (Shimizu *et al.*, 1999).

Compte tenu de son rôle déterminant dans la régulation de fonctions importantes, plusieurs études de l'expression du gène d'IGF-I par PCR en temps réel ont été effectuées chez les salmonidés (Pierce *et al.*, 2004; Pierce *et al.*, 2005; Côté *et al.*, 2007). Toutefois, ces études visaient principalement à documenter les variations temporelles de l'expression du gène d'IGF-I, sans tenir compte de différences potentielles d'expression entre individus adoptant des stratégies migratrices distinctes au sein d'un système donné. Plusieurs

questions quant à l'expression du gène d'IGF-I chez l'omble de fontaine ou d'autres salmonidés demeurent donc encore sans réponse. L'une de ces questions est celle de savoir si l'expression du gène d'IGF-I varie chez des populations utilisant des stratégies migratrices différentes (anadromie ou résidence). Giger *et al.* (2006), par l'entremise d'analyses d'échantillons de foie de truite brune (*Salmo trutta*) à l'aide de biopuces (900 ADNc), ont mis en évidence des différences d'expression entre résidents et anadromes. Cette étude n'a toutefois pas permis de déterminer si de telles différences d'expression entre anadromes et résidents s'appliquent également au gène d'IGF-I. Enfin, aucune étude, à notre connaissance, n'a encore porté sur l'estimation des bases génétiques, notamment l'héritabilité, de l'expression d'IGF-I. Ceci est particulièrement d'intérêt dans le contexte d'une étude comparative entre populations divergentes, dans l'optique de mieux comprendre le potentiel de réponse de ce trait à la sélection naturelle.

Dans ce contexte, l'objectif principal de notre étude était de comparer des profils d'expression d'IGF-I entre les populations anadrome et résidente d'ombles de fontaine de la rivière Laval, afin de déterminer si ce gène pouvait être impliqué dans la régulation physiologique propre à chacune d'elles. Nous avons donc utilisé une approche d'élevage identique de la fécondation jusqu'à l'âge de 1+, afin d'évaluer leur capacité à répondre physiologiquement à un premier contact avec le milieu marin. En plus d'évaluer l'héritabilité de l'expression d'IGF-I, nous avons inclus la production d'hybrides réciproques dans notre schéma expérimental pour vérifier la présence d'effets génétiques

additifs ou parentaux pour les traits physiologiques étudiés, et ainsi déterminer si les traits physiologiques étudiés présentaient une base génétique importante.

MÉTHODOLOGIE

Design expérimental et conditions d'élevage

La descendance de 12 ombles de fontaine mâles et 23 ombles de fontaine femelles provenant de la rivière Laval (Québec, Canada) a été utilisée dans cette étude, tel que décrit par Perry *et al.* (2005). Deux souches pures ont été utilisées. Les anadromes (AA) utilisés étaient les rejetons de troisième génération d'ombles de fontaine de la souche Laval. Ils étaient les rejetons de six mâles et 12 femelles maintenus à la Station aquacole de Pointe-au-Père, au Québec (48° 31' N, 68° 29' W). Les résidents étaient les rejetons de six mâles et 12 femelles sauvages capturés durant les étés de 2001 et 2002 dans le ruisseau Adam, un affluent de la rivière Laval. Deux types d'hybrides réciproques ont été produits, l'un avec des femelles anadromes et des mâles résidents (AR), et l'autre avec des femelles résidentes et des mâles anadromes (RA). Un total de 19 familles plein-frère a été utilisé, soit cinq au sein de trois des types de croisements et quatre au sein du groupe des hybrides RA. Tous les poissons utilisés pour les expériences étaient âgés de plus d'un an et ont été élevés dans des conditions similaires de la période d'incubation des œufs jusqu'à l'atteinte de la maturité sexuelle à la Station aquacole de Pointe-au-Père. La progéniture de chaque femelle a été élevée dans des compartiments séparés, mais l'environnement au sein du dispositif expérimental global a été rigoureusement contrôlé (12h:12h photopériode L:D à 4°C jusqu'à l'éclosion, puis aux températures ambiantes (7–8°C) à partir de la première alimentation exogène.

Lorsque les poissons ont atteint le stade d'alimentation exogène (en mai), le nombre de poissons a été standardisé parmi les familles (700 individus). Chaque famille a été isolée par des séparateurs au sein des réservoirs des juvéniles, jusqu'à ce que les poissons atteignent approximativement 4,0 g. Par la suite, les familles ont été regroupées aléatoirement dans des réservoirs circulaires de 500 L; leur identification a été rendue possible par l'utilisation de différentes combinaisons de marquages des nageoires pelviennes et/ou adipeuse. Toutes les familles au sein des réservoirs ont été régulièrement inspectées pour maintenir de bonnes conditions au sein des réservoirs d'élevage (< 30 kg de poisson par m³; Pennell et Barton, 1996). Les marquages de nageoires ont été vérifiés tous les 3-4 mois, et les poissons non identifiables ont été rejetés. Les poissons ont été élevés en eau douce dans des conditions naturelles de photopériode et de température (la température minimale, soit 2,0°C, a été atteinte en février; la température maximale, de 15,0°C, en septembre). La longueur et la masse corporelle ont été mesurées périodiquement pour déterminer la croissance. Les poissons ont été nourris avec des moulées commerciales, et la ration quotidienne a été ajustée selon la taille du poisson et la température de l'eau. Lorsque les poissons ont atteint l'âge de 17 mois, ils ont été graduellement transférés (2‰ jour⁻¹) en eau de mer provenant de l'estuaire (salinité finale de 20‰) pour l'été (de juin à août). Trois temps d'échantillonnage ont été utilisés dans le cadre cette étude: 1) à la mi-juin en eau douce et avant transfert en eau de mer; 2) 10 jours plus tard, après une augmentation graduelle de la salinité jusqu'à 20 ‰; 3) au moment où les poissons sont retournés en eau douce à la mi-août. Un total de 10 individus par famille, au sein de chacune des 19 familles, ont été échantillonnés aléatoirement, et ce durant chacun des temps d'échantillonnage. Le

foie et le muscle épaxial de chaque poisson échantillonné ont été disséqués et entreposés à -80°C.

Extraction de l'ARN

Des échantillons de foie de 0.025 g ont été broyés et mélangés avec 1,0 ml de réactif de trizol (Invitrogen), au moyen d'un broyeur de tissus. 200 µl de chloroforme (Invitrogen) ont été ajoutés à chacun des échantillons avant la centrifugation de ces derniers à 4°C et 12 000 rpm durant 15 minutes. Un volume de 1,0 ml d'isopropanol (Sigma-Aldrich) a été ajouté à la phase aqueuse. Les échantillons ont été entreposés jusqu'au lendemain à -80°C. Par la suite, les échantillons ont été centrifugés à 4°C et 13 000 rpm durant 60 minutes. Le surnageant a été aspiré à l'aide d'une pompe sous vide, et le culot a été nettoyé avec 1,0 ml d'éthanol 70% (Sigma-Aldrich). L'éthanol a ensuite été aspiré et le culot séché durant 15 minutes à la température de la pièce. Le culot asséché a été resuspendu dans 40,0 µl d'eau sans RNase (Ambion) et exposé à 1.0 µl de superase in (Ambion).

Purification de l'ARN et traitement à la DNase I

Les échantillons d'ARN ont été purifiés à l'aide de micro-colonnes (microcons) (Fisher Scientific). Ces microcons ont été centrifugés avec 100,0 µl d'eau sans RNase à 14 000 g durant 15 minutes. Ensuite, 35,0 µl de chaque échantillon d'ARN ont été transférés dans les microcons, élués avec 170,0 µl d'eau sans RNase, et centrifugés à 14 000 g durant

20 minutes; l'étape d'éluion a ensuite été répétée. Le filtre de chaque microcon et 30,0 µl d'eau sans RNase ont ultérieurement été transférés dans un autre microcon et centrifugés à 4000 g durant 4 minutes. Tous les échantillons d'ARN ont été incubés durant 35 minutes à la température de la pièce avec 2,0 µl de désoxyribonucléase I (Invitrogen) et 3,0 µl de tampon 10X pour désoxyribonucléase I (200 mM de Tris-HCl à pH 8,4, 20 mM de MgCl₂ et 500 mM de KCl) afin d'éliminer toute contamination par de l'ADN génomique. Les échantillons ont été incubés avec 3,0 µl d'EDTA 25 mM, durant 10 minutes à 65°C, pour interrompre la réaction de la désoxyribonucléase.

Transcription inverse et PCR en temps réel

Les échantillons d'ARN ont été dilués avec de l'eau sans RNase à une concentration de 0,100 µg d'ARN/µl dans un volume de 20,0 µl. Un volume de 20,0 µl de master mix (4,0 µl de tampon de transcription inverse 10X, 1,6 µl de dNTP 25X, 4,0 µl d'amorces aléatoires 10X, 2,0 µl de transcriptase inverse MultiScribe™ à 50 U/µl et 8,4 µl d'H₂O sans nucléase), provenant d'une trousse de transcription inverse ADNc (Applied Biosystems), a été ajouté à chaque échantillon, pour un volume final de réaction de 40,0 µl. Toutes les réactions de transcription inverse ont été effectuées sur un thermocycleur GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems), avec les profils thermiques suivants: 10 min à 25°C, 120 min à 37°C et 5 sec à 85°C. Tous les échantillons ont été conservés à -20°C jusqu'aux analyses de PCR en temps réel. Les sondes et amorces TaqMan™ MGB pour le gène d'IGF-1 ont été produites par Applied Biosystems. Toutes les réactions ont été effectuées

au moyen d'un système de détection de séquences ABI Prism 7500 (Applied Biosystems). Les amorces d'ARNm d'IGF-I d'ombles de fontaine ont été élaborées par Côté *et al.* (2007). Le gène de référence utilisé pour la quantification relative par PCR en temps réel fut le gène de la sous-unité 18S de l'ARNr (Applied Biosystems). Les profils d'expression géniques ont été mesurés avec la méthode de quantification relative des $2^{-\Delta\Delta C_T}$, permettant de comparer l'expression du gène étudié à celle du gène de référence, telle que décrite par Côté *et al.* (2007), avec des modifications mineures. Pour tous les groupes d'amorces/sondes, les efficacités d'amplification ont été calculées selon les instructions du manufacturier, et toutes les valeurs se sont avérées suffisantes pour comparer directement les profils d'amplification (voir le document intitulé "Sequence Detection Systems Quantitative Assay Design and Optimization", d'Applied Biosystems). Chaque réaction (25.0 µl) a été lancée en triplicata et contenait 5.0 µl d'ADNc (dilué 1:5 pour le gène ciblé et 1:5000 pour le gène d'ARNr 18S), 12,5 µl de master mix Taqman Universal PCR (Applied Biosystems) et 0,9 µM d'amorces F/R. Le profil thermocyclique utilisé était celui sélectionné par défaut par le logiciel SDS 3.1.3 (50°C durant 2 min, 95°C durant 10 min, puis 40 cycles à 95°C durant 15 sec, et à 60°C durant 1 min).

Analyse des données

Des tests de Kolmogorov-Smirnov et de Brown-Forsythe ont été effectués pour vérifier la normalité des données (K-S) et l'homoscédasticité des variances (B-F). Les niveaux d'expression d'IGF-1 en fonction du croisement, du sexe et du temps

d'échantillonnage ont été analysés à l'aide d'analyses de variance (ANOVA). Des tests de Tukey ont été utilisés en guise d'analyses *a posteriori* lorsque les ANOVA indiquaient des effets significatifs, et que les variances étaient homogènes. Des tests de Games-Howell ont été utilisés à la place des tests de Tukey lorsque les variances étaient hétérogènes. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées avec la version 6.0 de Statistica pour Windows (StatSoft, Tulsa, OK, USA).

Les valeurs d'héritabilité de l'expression d'IGF-I ont été calculées avec la version 2.0 du logiciel ASREML (VSN International Ltd., Royaume-Uni). Le modèle utilisé était $Y_i = \mu + A_i + e$, où Y est la variable mesurée, μ est la moyenne, A est l'effet additif aléatoire et e est le vecteur associé à l'erreur aléatoire. Les valeurs d'héritabilité ont seulement été quantifiées chez les souches pures, séparément pour chacune d'elles et seulement pour les niveaux d'expression des ombles échantillonnés à la fin juin, après leur transfert en eau de mer. ASREML a également été utilisé pour déterminer les valeurs reproductives estimées (EBV, mérite génétique additif; Mrode 2005) et les effets parentaux (maternels et paternels). Ces derniers ont été estimés par le ratio de la variance génétique additive des mères (ou des pères) des ombles anadromes, résidents et hybrides sur la variance phénotypique. Le modèle utilisé pour déterminer les effets parentaux était $Y_i = \mu + A_i + M_i + P_i + e$, où Y est la variable mesurée, μ est la moyenne, A est l'effet additif aléatoire, M est l'effet maternel, P est l'effet paternel et e est le vecteur associé à l'erreur aléatoire. Les

effets parentaux ont été mesurés sur l'ensemble des individus échantillonnés à la fin juin (anadromes, résidents et hybrides réciproques).

RÉSULTATS

En juin (jour 0), l'expression relative d'IGF-1 ne différait pas significativement d'un croisement à l'autre (Fig. 1.1). Après 14 jours en eau de mer, l'expression d'IGF-1 s'est avérée significativement plus élevée chez les ombles RR et hybrides RA par rapport au niveau observé en eau douce (Croisement x Temps: $df = 6$; $F = 7.03$; $p < 0.001$). Au contraire, aucune augmentation significative de l'expression d'IGF-I n'a été détectée pour les anadromes et les hybrides AR. Enfin, la même tendance temporelle générale était présente chez les quatre croisements (Fig. 1.1). Par exemple, à la fin de l'été, l'expression relative d'IGF-I diminuait par rapport à l'expression après le transfert en eau de mer pour tous les types de croisements, et atteignait même un niveau plus faible qu'avant transfert en eau de mer chez les souches pures.

Malgré un patron d'expression similaire, les valeurs d'héritabilité d'IGF-I après le transfert en eau de mer étaient élevées chez les anadromes ($h^2 = 0,58 \pm 0,38$) mais nulles chez les résidents ($h^2 = 0,00 \pm 0,00$). La variance des EBV s'est avérée faible chez les deux souches pures (respectivement 0,34 et 0,00, chez les anadromes et les résidents). Aucun effet de l'origine de la mère ou du père n'a été observé pour l'expression d'IGF-I après le transfert en eau de mer, puisque le ratio de la variance des mères ou des pères sur la variance phénotypique était faible (respectivement $0,02 \pm 0,05$ et $0,12 \pm 0,20$).

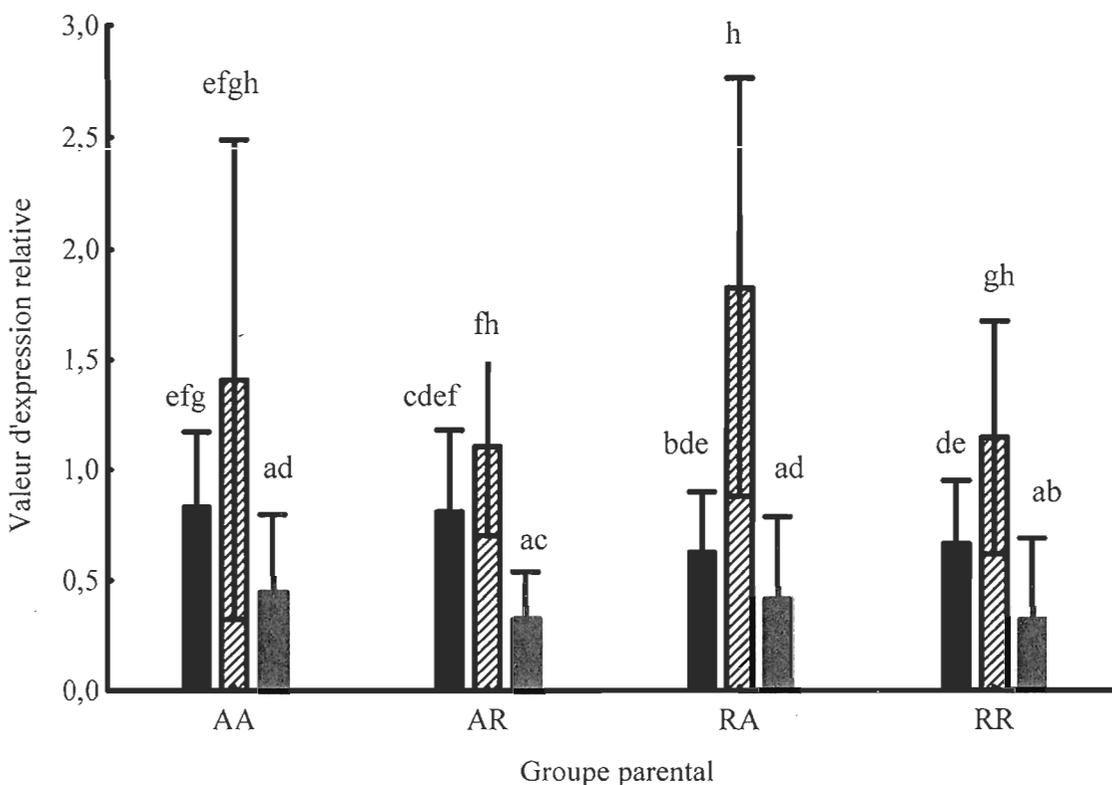


Figure 1.1. Expression d'IGF-1 chez des ombres anadromes (AA), résidents (RR) et hybrides (AR, RA) 1⁺ avant leur transfert en eau de mer (en noir), après 14 jours en eau de mer (en noir hachuré), et à la fin de l'été (en gris). Les valeurs exprimées sont les moyennes \pm l'erreur-type. Les lettres indiquent la présence de différences significatives entre les croisements et d'un temps d'échantillonnage à l'autre ($p < 0.05$).

Des effets familiaux significatifs ont été observés ($df = 15$; $F = 4.27$; $p < 0.001$). Pour chaque croisement, l'intensité de la réponse variait d'une famille à l'autre, et ce lors de chacun des trois temps d'échantillonnage (Fig. 1.2). L'expression d'IGF-I était globalement 1.3 fois plus élevée chez les mâles ($0,94 \pm 0,69$) que chez les femelles ($0,72 \pm$

0,65) ($df = 1$; $F = 13,29$; $p < 0,01$), mais aucune interaction entre le sexe et les autres facteurs n'a été observée (Temps x Sexe : $df = 2$; $F = 1,39$; $p > 0,05$; Croisement x Temps : $df = 3$; $F = 2,46$; $p > 0,05$; Croisement x Temps x Sexe : $df = 6$; $F = 1,96$; $p > 0,05$).

Figure 1.2. Expression d'IGF-1 par famille chez des ombres anadromes (AA), résidents (RR) et hybrides (AR, RA) 1⁺ avant leur transfert en eau de mer, après 14 jours en eau de mer, et à la fin de l'été. Les valeurs exprimées sont les moyennes \pm l'écart-type. Chaque barre noire représente une famille. Pour les croisements et les temps d'échantillonnage présentant des effets familiaux significatifs, des lettres ont été ajoutées pour indiquer les différences inter-familiales, des lettres différentes indiquant la présence de différences significatives ($p < 0.05$).

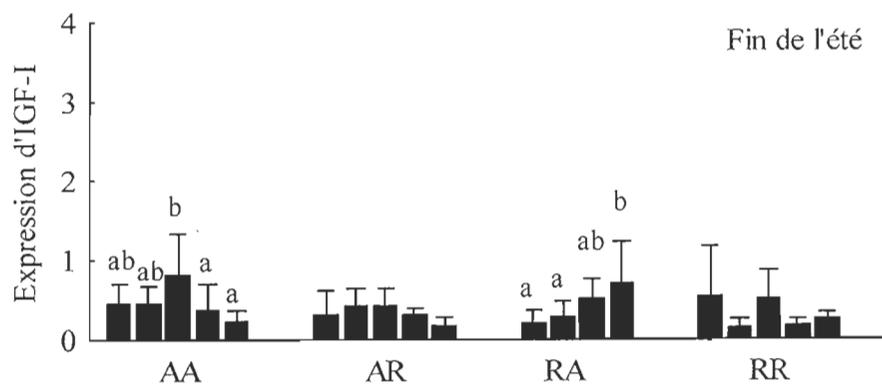
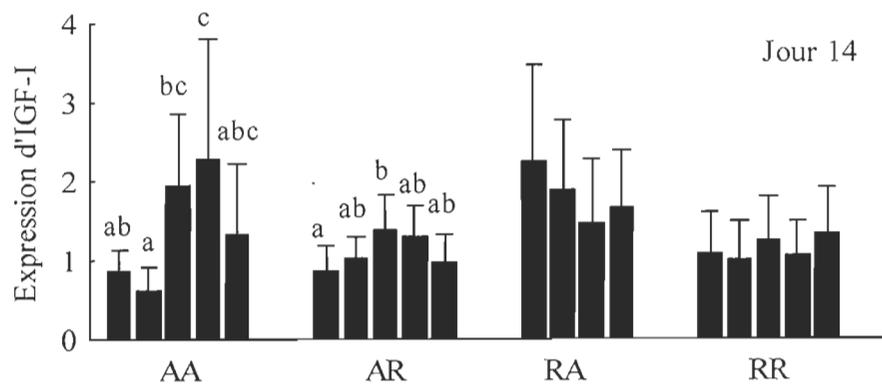
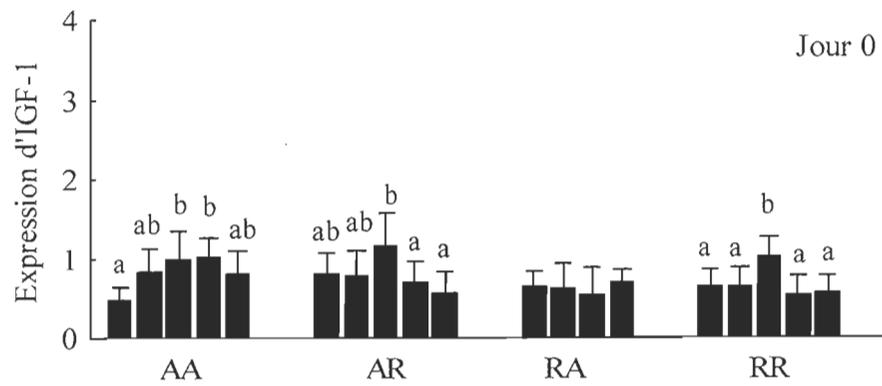


Figure 1.2. Expression d'IGF-1 par famille chez des ombres anadromes (AA), résidents (RR) et hybrides (AR, RA) 1⁺ avant leur transfert en eau de mer, après 14 jours en eau de mer, et à la fin de l'été. Les valeurs exprimées sont les moyennes \pm l'écart-type. Chaque barre noire représente une famille. Pour les croisements et les temps d'échantillonnage présentant des effets familiaux significatifs, des lettres ont été ajoutées pour indiquer les différences inter-familiales, des lettres différentes indiquant la présence de différences significatives ($p < 0.05$).

leur permettre de compléter leur acclimatation à l'eau de mer. Une augmentation de l'expression d'IGF-I est généralement associée à une augmentation de la tolérance à l'eau de mer (Seidelin et Madsen, 1999; McCormick, 2001). En effet, IGF-I favorise une augmentation de la sécrétion des ions après un transfert en eau de mer chez les salmonidés (McCormick, 2001; Nilsen *et al.*, 2008). Il est plausible que l'augmentation significative de l'expression chez les résidents soit le signe d'un effort physiologique plus élevé que chez les anadromes? Ainsi, Bastien (2010), qui a utilisé les mêmes croisements pour étudier plus en détail la réponse osmorégulatrice, a noté une hausse marquée de l'osmolarité plasmatique chez les résidents (3,9 %), mais non chez les anadromes (2,6%).

Dans une étude effectuée par Côté *et al.* (2007), des ombles de fontaine provenant de la rivière Rupert et résidents en eau douce n'ont présenté aucun changement notable d'expression d'IGF-I dans le foie entre les milieux d'eau douce et d'eau salée. Toutefois, une plus forte expression du gène de GHR (récepteur de l'hormone de croissance) chez les ombles élevés en eau salée que chez ceux élevés en eau douce a été observée par ces auteurs, en dépit d'une croissance nettement inférieure en eau salée (Côté *et al.*, 2007). Côté *et al.* (2007) ont interprété ces résultats comme un investissement énergétique relatif plus important pour produire la même quantité de tissu chez les ombles élevés en eau de mer. Ces résultats ont amené les auteurs à suggérer que les ombles de la rivière Rupert avaient partiellement perdu leur capacité d'osmorégulation en eau salée, probablement en raison d'une architecture génétique inadéquate pour la tolérance à l'eau de mer (c'est-à-dire

un niveau insuffisant d'expression des gènes impliqués dans les mécanismes d'adaptation à l'eau de mer, tels que ceux d'IGF-I et de la Na^+/K^+ ATPase, avant même que le passage à l'eau de mer ne se produise) (Côté *et al.*, 2007). Chez les salmonidés, IGF-I augmente l'activité branchiale de la Na^+/K^+ ATPase (Madsen et Bern, 1993; McCormick, 2001). Cependant, Bastien (2010) a plutôt constaté une baisse de l'activité branchiale de la Na^+/K^+ ATPase après le transfert en eau de mer chez les résidents et l'absence de changement d'activité chez les anadromes. Plusieurs études récentes démontrent en fait que des isoformes différentes seraient activées en eau douce et en eau de mer (Richards *et al.*, 2003; Ojima *et al.*, 2009) et conséquemment, une conclusion sur les résultats obtenus en regard de l'absence d'une hausse d'activité enzymatique corrélée à une hausse de l'expression d'IGF-I nécessiterait l'étude de l'activité de ces différentes isoformes.

À la fin de l'été, l'expression d'IGF-I était plus faible chez tous les groupes en dépit d'une croissance significative durant cette période, ce qui suggère que les réponses observées sont plutôt corrélées à la réponse au changement de salinité du milieu qu'à des performances de croissance différentes. Il faut cependant noter que la corrélation entre les niveaux plasmatiques d'IGF-I et le taux de croissance n'est pas toujours positive chez les téléostéens (Silverstein *et al.*, 1998; Eppler *et al.*, 2007). Il est maintenant généralement admis que la relation entre la production/sécrétion d'IGF-I et le taux de croissance change au fil du temps chez les salmonidés, à l'échelle saisonnière (Beckman *et al.*, 1998), hebdomadaire (Cameron *et al.*, 2007), ou même quotidienne. En outre, la demi-vie

biologique d'IGF-I dans le plasma est grandement accrue, et son activité biologique est altérée par sa liaison à des protéines de liaison à IGF (IGFBP; Jones et Clemmons, 1995). Cela est susceptible de provoquer un délai significatif entre la libération d'IGF-I par le foie et la croissance corporelle. IGF-I est également impliqué dans la régulation du métabolisme énergétique (Aas-Hansen *et al.*, 2005) et la réponse immunitaire (Moriyama *et al.*, 2000), et nos résultats d'expression pourraient avoir été influencés par ces fonctions. Cependant, le fait que des différences d'expression hépatique d'IGF-I entre des milieux d'eau douce et d'eau salée aient été observées dans le cadre de notre étude, mais pas par d'autres auteurs (Sakamoto et Hirano, 1993; Côté *et al.*, 2007), suggère que, tout comme la nature du tissu étudié, l'origine génétique des poissons étudiés influence l'expression des gènes impliqués dans l'osmorégulation. Dans le cadre de notre étude, les différences observées dans les profils d'expression d'IGF-I avant et après transfert en eau de mer chez les ombles anadromes et résidents, ainsi que chez les deux types d'hybrides réciproques, ajoutent des preuves additionnelles à l'effet qu'il existe une différenciation génétique entre les anadromes et les résidents de la rivière Laval. Cependant, l'utilisation des hybrides réciproques a permis de mettre en lumière l'absence d'effets paternels ou maternels dans l'expression de ce trait physiologique. Toutefois, les différences significatives d'expression entre les deux types d'hybrides, qui n'étaient pas prévues, suggèrent que les profils d'expression d'IGF-I chez l'omble de fontaine sont influencés par le type de croisement effectué.

Des recherches sur plusieurs espèces de salmonidés ont montré des divergences ayant une base génétique pour des traits quantitatifs liés à l'anadromie ou la résidence en eau douce, incluant l'omble de fontaine (Heath *et al.*, 2002; Perry *et al.*, 2004; Perry *et al.*, 2005), probablement en raison des pressions sélectives divergentes subies par les individus anadromes et résidents. Les différences d'expression d'IGF-I hépatique observées entre les croisements dans le cadre de notre étude sont probablement d'origine génétique, tous les croisements ayant été élevés dans les mêmes conditions expérimentales. Les analyses de génétique quantitative effectuées indiquent une héritabilité significative pour l'expression d'IGF-I chez les anadromes, mais pas chez les résidents. Les valeurs d'EBV chez les résidents étaient également pratiquement nulles. Ceci laisse entendre que ce trait ne présente que peu de potentiel de réponse à la sélection chez les résidents, contrairement à ce que l'on observe chez les anadromes. Les réponses physiologiques des ombles résidents suggèrent cependant que ces derniers ont tout de même conservé la capacité de s'acclimater à l'eau de mer, conformément aux résultats obtenus précédemment chez une souche domestique d'eau douce (Claireaux et Audet, 2000).

La variance d'expression au sein du groupe anadrome était plus élevée que celle observée chez les résidents, ce qui se reflète dans les différences interfamiliales généralement plus importantes pour ce croisement particulier. Ces observations corroborent ainsi les différences de valeurs d'héritabilité mesurées pour les deux formes. Les différences d'expression d'IGF-I entre les familles, avant et après le transfert en eau de mer

et après le retour des poissons en eau douce, pourraient être liées à plusieurs traits physiologiques comme la masse corporelle, le taux de croissance moyen et l'indice hépatosomatique. Il faut toutefois mentionner que, pour chaque temps d'échantillonnage, certains croisements n'ont présenté aucune différence interfamiliale, peut-être en raison de la variance d'expression élevée des familles au sein de ces groupes. L'importance de la variation individuelle, qui peut être considérable, ne doit donc pas être négligée, ainsi que d'autres auteurs l'ont affirmé (Oleksiak *et al.*, 2005; Crawford et Oleksiak, 2007).

Comme dans la présente étude, Côté *et al.* (2007) ont observé que l'expression d'IGF-I était plus élevée chez les mâles que chez les femelles. Des différences d'expression hépatique d'IGF-I entre les sexes ont également été observées chez le tilapia (*Oreochromis mossambicus*) (Riley *et al.*, 2002; Davis *et al.*, 2008). Les stéroïdes sexuels pourraient influencer l'expression d'IGF-I et expliquer de telles différences entre mâles et femelles. Ainsi, il est connu que les androgènes stimulent, alors que les oestrogènes diminuent, l'expression hépatique d'IGF-I chez les poissons (Riley *et al.*, 2002; Riley *et al.*, 2004; Davis *et al.*, 2007; Filby *et al.*, 2007).

Conclusions et perspectives

L'axe GH/IGF-I exerce ses fonctions par l'entremise d'un réseau fort complexe d'interactions (Beckman *et al.*, 1998; Björnsson *et al.*, 2002), et les profils d'expression du

gène d'IGF-I obtenus dans le cadre de cette étude reflètent assurément cette complexité. En effet, ces profils d'expression ont varié en fonction de plusieurs facteurs, tels que le type de croisement, la famille, le sexe et le temps d'échantillonnage. Néanmoins, malgré l'effet de ces différents facteurs, les ombles anadromes et résidents ont présenté des différences nettes de profils d'expression avant et après leur transfert en eau de mer, ce qui suggère des différences de tolérance à la salinité, qui pourraient résulter d'une divergence adaptative entre ces deux formes (Perry et al. 2005). Par ailleurs, l'expression d'IGF-I semble posséder une base génétique et un potentiel de réponse à la sélection importants chez les anadromes seulement, ainsi que l'indiquent les valeurs d'héritabilité élevées pour cette souche pure. Les effets génétiques sous-tendant l'expression d'IGF-I chez les anadromes après le transfert en eau de mer n'étaient vraisemblablement pas de nature parentale. Le fait que les deux types d'hybrides réciproques aient présenté des différences d'expression d'IGF-I marquées durant la même période suggère également l'importance de la direction de croisement. Des différences interfamiliales ont été observées au sein de plusieurs croisements, mais pas tous, durant les trois temps d'échantillonnage. Enfin, l'expression d'IGF-I était généralement plus élevée chez les mâles que chez les femelles. Des projets de recherche futurs, en continuité de celui-ci, devraient mettre l'accent sur les mécanismes post-transcriptionnels liés à IGF-I, afin d'améliorer notre compréhension globale des processus biochimiques contrôlant l'évolution de cette molécule, de la transcription du gène à la sécrétion d'IGF-I dans le plasma.

CHAPITRE 2
RÉPONSES PHYSIOLOGIQUES ET HÉRITABILITÉ DE TRAITS LIÉS À LA
REPRODUCTION CHEZ DES OMBLES DE FONTAINE (*SALVELINUS*
***FONTINALIS*) ANADROMES, RÉSIDENTS ET HYBRIDES**

2.1 RÉSUMÉ

L'objectif de cette étude était de déterminer si des ombles de fontaine anadromes, résidents et hybrides réciproques présentaient des différences physiologiques et génétiques pour des traits liés à la reproduction. Des ombles de fontaine anadromes (A) et résidents (R) provenant du même bassin hydrographique ont été utilisés pour produire quatre types de croisements ($\text{♀A}\text{♂A}$, $\text{♀A}\text{♂R}$, $\text{♀R}\text{♂A}$, et $\text{♀R}\text{♂R}$). Les conditions d'élevage étaient identiques, de l'incubation des oeufs jusqu'à l'âge de 22 mois. Aucune différence pour le pourcentage de poissons atteignant la maturité sexuelle à 1+ n'a été observée entre les croisements, mais ce pourcentage était plus élevé chez les mâles que chez les femelles. Chez les femelles, des différences entre les anadromes et les résidents au chapitre de l'accumulation des réserves énergétiques hépatiques (principalement le glycogène), de l'indice hépato-somatique et des concentrations hépatiques de vitellogénine entre juin et novembre suggèrent un rythme de maturation et un investissement reproducteur différents pour les deux souches pures. Chez les mâles, aucune différence d'accumulation de glycogène hépatique n'a été observée en novembre, vraisemblablement en raison du coût relativement faible de la reproduction chez les mâles, indépendamment de la stratégie migratrice utilisée. Des effets de croisement ont été observés en juin pour le contenu protéique hépatique, et en novembre pour le contenu glycogénique hépatique chez les femelles. Les hybrides ont souvent présenté des valeurs similaires à celles des poissons d'au moins une des deux souches pures pour les réserves hépatiques et d'autres traits. Plusieurs traits se sont

avérés héritable chez au moins une des deux souches pures. Chez les anadromes, seuls la masse corporelle et le glycogène hépatique étaient hautement héritable ($h^2 = 0,60$ et $0,87$). Les valeurs d'héritabilité des résidents étaient élevées pour l'IHS et le KF ($h^2 = 0,65$ et $0,56$, respectivement), modérées pour la masse corporelle ($h^2 = 0,40$), et nulles pour toutes les réserves énergétiques hépatiques ($h^2 = 0,00$). Les variances des EBV (variances génétiques des valeurs reproductives estimées, c'est-à-dire variances additives estimées) étaient élevées pour la masse corporelle chez les anadromes et les résidents ($\sigma^2 = 114,26$ et $75,82$, respectivement) et pour le glycogène hépatique chez les anadromes ($\sigma^2 = 242,16$), mais faibles pour tous les autres traits chez les deux souches pures. Ainsi, les ombles de fontaines anadromes et résidents sympatriques provenant de la rivière Laval ont présenté des différences phénotypiques et des héribilités différentes pour plusieurs traits liés à la reproduction. Globalement, ces résultats indiquent une base génétique significative pour certains des traits reliés à la reproduction. Enfin, les valeurs de Q_{ST} (différenciation génétique quantitative de traits phénotypiques entre populations), à l'exception du KF, étaient élevées (de $0,31$ à $0,82$) et généralement supérieures à l'attendu neutre ($F_{ST} = 0,15$). Ceci suggère que des pressions sélectives divergentes ont contribué à maintenir des adaptations locales associées aux stratégies anadrome et résidente dans la rivière Laval.

2.2 PHYSIOLOGICAL RESPONSES AND HERITABILITY OF ANADROMOUS, RESIDENT AND HYBRID BROOK CHARR (*SALVELINUS FONTINALIS*) FOR TRAITS RELATED TO REPRODUCTION

INTRODUCTION

Utilization of alternative life history strategies, namely anadromy or freshwater residency, is relatively common in salmonids (Power, 1980; Gross, 1987; Thorpe, 1989; Thorpe, 1994; Arndt, 2000). The choice of alternative strategies presumably occurs because salmonids have high energetic requirements for growth and reproduction, that have to be obtained in environments where food is scarce and where competition is high (Thorpe, 1994). North temperate regions, where salmonids usually live, also have marked seasonal variations in biotic and abiotic variables, to which the fish must adapt to survive and ensure successful reproduction (Berg and Bremset, 1998). The alternative strategies are different behavioural solutions to obtain sufficient food while avoiding being eaten (Thorpe, 1994).

In brook charr, the utilization of contrasting habitats by individuals may lead to alternative life history strategies (anadromy or freshwater residence) (Boula *et al.*, 2002; Castric and Bernatchez, 2003) between populations, or alternative life history tactics within populations, in coastal areas (Thériault and Dodson, 2003; Thériault *et al.*, 2007a; Homel *et*

al., 2008). Such a differentiation is not only a consequence of a high phenotypic plasticity (Hutchings, 1996), but also presumably the result of different selective pressures leading to an evolutionary divergence of populations into contrasting niches (Schluter, 2000; Bernatchez, 2004; Perry *et al.*, 2005).

Differences in migratory behaviour may have an impact on reproductive physiology. In ecotypes issued from the same population, body growth is one of the most critical factors in determining the onset of sexual maturation; as such, early maturation is very likely to be positively correlated with rapid growth (Thériault and Dodson, 2003; Unwin *et al.*, 2004; Thériault *et al.*, 2007a). Comparing resident and anadromous females issued from two sympatric populations, Perry *et al.* (2005) found that, at the late juvenile stage, life history traits were characterized by divergent selection. Independantly of size, anadromous dams produced more eggs and had more surviving fertilized eggs than resident dams (Perry *et al.*, 2005).

In males, sexual maturation generally occurs at younger age in resident than in anadromous fish, whether they originate from a single genetic population (Thériault *et al.*, 2007b) or from two sympatric ones (Boula *et al.*, 2002). Morinville and Rasmussen (2003) demonstrated that growth efficiency (the ratio of growth to food consumption) was higher in resident than in anadromous brook charr of the Ste. Marguerite River, suggesting a more rapid body growth in the former. Also, as it was demonstrated in other salmonid species,

higher growth rate and larger body size can be achieved by migrating to sea water, where richer feeding areas are available (Gross, 1987). Better feeding opportunities and the resulting higher lipid body reserves may be particularly critical for sustaining the physiological processes involved in sexual maturation, such as vitellogenesis, which requires the incorporation of a large amount of proteins and lipids into yolk precursors (Wiegand, 1996).

Vitellogenin (VTG) is a large glycolipophosphoprotein that serves as the major yolk precursor in oviparous vertebrates (Tyler and Sumpter, 1996; Buisine *et al.*, 2002). In fish, VTG is synthesized in hepatocytes, mainly under estrogenic control, and transported in the bloodstream to developing oocytes (Jalabert, 2005; Moussavi *et al.*, 2009). In salmonids, proteins and lipids of the yolk material are stored until the late stages of oogenesis and in the embryo (Kwon *et al.*, 2001); they constitute an important proportion of the final egg size (80% in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*; Kwon *et al.*, 2001). This yolk material is thus of primary importance for the embryos, which must rely entirely on this internal food source for their growth and nutrition for several weeks after fertilization until first feeding (Kwon *et al.*, 2001; Lim *et al.*, 2001). In brook charr as well as in other salmonid species, vitellogenesis begins several months prior to spawning (Tyler and Sumpter, 1996). Despite this early increase in VTG levels, the most intensive phase of vitellogenesis, which is characterized by pronounced oocyte growth (Tyler and Sumpter, 1996) and a several-fold increase of the gonadosomatic index (GSI) (Tyler and Sumpter, 1996; Berg *et al.*, 2004),

takes place from July to September. The period of vitellogenesis may be subject to temporal variation within and between species, as there is evidence that growth rate is critical in determining the onset and extent of gonadal development, thus vitellogenesis, in salmonid fish (Adams and Huntingford, 1997).

Vitellogenesis in salmonids is relatively well known (e.g. Mellinger, 2002), but whether this physiological process, as well as the other aforementioned traits related to sexual maturation (hepatic reserves, HSI), varies in function of life history strategies remains unclear.

Using a common garden experimental design (same rearing and experimental environmental conditions), we had three aims. We tested whether phenotypic differences in terms of energy accumulation during summer and fall, age at first sexual maturation, and vitellogenesis exist between freshwater resident and anadromous brook charr originating from two distinct genetic pools (Boula *et al.*, 2002; Perry *et al.*, 2005). We also tested whether phenotypic differences in reproductive traits observed in the field and related to life history strategy have a significant genetic basis (selection versus neutral genetic processes, additive genetic effects and parental effects). Finally, we verified whether the differences between both populations could have been maintained by selective pressures related to local adaptations.

MATERIALS AND METHODS

Experimental design, rearing conditions, and sampling

The reader is referred to chapter 1 for description of breeding design, rearing conditions and samplings description. However, in the present chapter, an additional sampling time was added, i. e. in November, in fresh water at the time of reproduction. Fish were also sampled in June, while still in FW, and in August, once returned in fresh water after 50 days spent in salt water.

Energetic reserve assays

Total hepatic protein content was assayed using the Bradford method (1976) with minor modifications. Biorad reagent (Biorad) was used, and the assays were performed as specified in the manufacturer's protocol. Protein concentrations were read at a wavelength of 595 nm. Hepatic glycogen was measured according to the Carr & Neff method (1984), with glucose being measured using o-toluidine reagent (Sigma-Aldrich) and glucose standards from the Quantichrom glucose assay kit (BioAssays). Glucose concentrations were read at a wavelength of 630 nm. The Frings method (1972) was used to assay total hepatic lipid content.

Vitellogenin enzyme-linked immunosorbent assays

Liver samples were homogenized in 0.1 M phosphate buffer at pH 7.0 to which 50 μ l/ml protease inhibitor cocktail (Sigma-Aldrich) had been added to inhibit vitellogenin proteolysis; samples were stored at -80°C until analysis. Crude homogenates were centrifuged at 12,000 rpm for 10 min before the vitellogenin assays, which were performed using rainbow trout vitellogenin ELISA kits (Cayman Chemical) as described in the manufacturer's protocol. Vitellogenin was assayed in the livers of females only, since males do not produce this lipoprotein in a significant amount under normal physiological conditions.

Data analyses

Fulton's condition factor (KF) was calculated as $\text{KF} = (\text{W L}^{-3}) \times 100$, where W is fish body weight in grams and L is the fork length in centimetres (Pennell and Barton, 1996). The gonadosomatic index was calculated as $\text{GSI} = \text{GW} (\text{W}-\text{GW})^{-1} \times 100$, where GW is gonad weight in grams. Gonad weight has a direct effect on body weight, thus gonad weight was subtracted from body weight to eliminate biases linked to gonad weight fluctuations. The hepatosomatic index was calculated as $\text{HSI} = \text{LW} (\text{W}-\text{LW})^{-1} \times 100$, where LW is liver weight in grams. Kolmogorov-Smirnov and Brown-Forsythe tests were applied to assess data normality (K-S) and homogeneity of variance (B-F). In males and females, physiological differences among cross-types (CT), time (T), and maturation stages (MS) were analyzed by multi-ways analysis of variance (ANOVA). The family factor was nested

in cross-type and the following interactions were tested: CT × T, MS × T, CT × MS, and CT × MS × T. Analyses of covariance (ANCOVA), with body weight as a covariate, were performed to analyze hepatic energy reserve results. Appropriate a posteriori tests (Tukey HSD) were applied when needed. Differences at $p < 0.05$ were considered to be significant. All the statistical analyses were performed with Statistica version 6.0.

Heritability estimates were calculated for phenotypic traits. However, it was not calculated for vitellogenin concentrations, because of insufficient numbers of individuals within each family. Heritability estimates were obtained using the ASREML software 2.0 (VSN International Ltd., UK) using the model $Y_i = \mu + A_i + e$, where Y is the response variable, μ is the mean, A is the random additive effect, and e is the vector associated with random error. Heritability values were quantified on pure cross-types only, and separately for each pure cross-type. Heritability calculations were done on data obtained in August. ASREML was also used to determine estimated breeding values (EBV, additive genetic merit; Mrode 2005) and parental effects (maternals and paternals). These effects were estimated by the ratio of parental (dam and sire) additive genetic variance on phenotypic variance. Parental effects were determined using the model $Y_i = \mu + A_i + M_i + P_i + e$, where Y is the response variable, μ is the mean, A is the random additive effect, M is the maternal effect, P is the paternal effect and e is the vector associated with random error. Parental effects were measured on all sampled individuals in August (anadromous, residents and reciprocal hybrids).

The extent of quantitative genetic variation in phenotype (Q_{ST}) between anadromous and resident brook charr for the studied physiological traits was calculated as $Q_{ST} = \sigma_{bw}^2 / (2\sigma_{wn}^2 + \sigma_{bw}^2)$, where σ_{bw}^2 was the phenotypic variance between populations (anadromous and residents), and σ_{wn}^2 the within-population quantitative genetic variance, according to Perry *et al.* (2005). All the variance components used in the formula were obtained using the ASREML software 2.0 (VSN International Ltd., UK). The F_{ST} value used in the present study was the one calculated by Perry *et al.* (2005) between anadromous and resident brook charr of the Laval River (e.g. $F_{ST} = 0.153$, 95% CI = 0.071-0.214).

RESULTS

Females

Percentage of early sexual maturation and gonadosomatic index

Significantly less females than males experienced early sexual maturation at 1+ (df = 1, $F = 50.3$, $p < 0.001$). The percentage of early sexual maturation in females did not differ among cross-types (df = 3, $F = 0.53$, $p > 0.05$; Table 2.1) and occurrence of maturation was not correlated either with mass (ANCOVA, df = 1, $F = 1.03$, $p > 0.05$) or length (ANCOVA, df = 1, $F = 0.47$, $p > 0.05$) as determined from data obtained in November (Fig. 2.1). In August and November, GSI was similar among cross-types in both mature and immature females (Table 2.2). There was no significant interaction between cross-types and maturation stages (Table 2.2).

Vitellogenin

In June (all sexually immature fish), hepatic vitellogenin concentrations were low (0.02 - 5.06 mg g liver⁻¹), and did not differ between pure crosses but were significantly higher in the RR cross-type compared to AR females (Fig. 2.2A). In August, hepatic vitellogenin concentrations in females with gonadal maturation was more than 10 fold higher than concentrations measured in June (0.04 - 227.46 mg g liver⁻¹) but no cross-type

effect was present (Fig. 2.2B). However, large variations were observed among RR females. In November, hepatic vitellogenin concentrations were 10 fold higher than in August ($5.85 - 2472.90 \text{ mg g liver}^{-1}$) and significantly higher in anadromous females than in resident ones (Fig. 2.2C). The two hybrid cross-types showed intermediate concentrations. In August and November, hepatic vitellogenin concentrations were significantly different between immature females and females with gonad development (maturation stage (MS), $df=1$, $F = 75.0$, $p < 0.001$; $MS \times CT$, $df = 3$, $F = 0.30$, $p > 0.05$), immature females having similar vitellogenin concentrations than the ones measured in June (data not shown).

Table 2.1. Percentage of gonadal maturation in 1+ female and male brook charr.

Group	Females	Males
Anadromous (AA)	25.5 ± 5.6 [10.5 - 46.6]	69.7 ± 12.1 [23.1 - 100.0]
Anadromous/resident hybrids (AR)	32.6 ± 6.3 [11.8 - 50.5]	69.7 ± 11.7 [20.0 - 94.4]
Resident/anadromous hybrids (RA)	19.0 ± 6.8 [9.0 - 38.8]	76.4 ± 9.1 [50.0 - 90.9]
Residents (RR)	25.5 ± 6.3 [5.5 - 41.9]	80.0 ± 6.6 [63.6 - 100.0]

Mean \pm SE. The familial range within each group is given in brackets.

Hepatosomatic index

Concomittant to vitellogenin production, HSI increased from August to November. In August, there was no difference among cross-types in HSI, which was significantly larger in females undergoing sexual maturation than in immature females (Table 2.2). In November, HSI was larger in mature anadromous females than in resident ones (Table 2.2). HSI in AA and AR females undergoing sexual maturation was similar (Table 2.2). Interestingly, HSI in RR immature females was larger than in immature females from the other cross-types (Table 2.2).

Fig. 2.1 A. Body weight of anadromous, resident, and reciprocal hybrid female brook charr from June to November. **B.** Body weight of anadromous, resident, and reciprocal hybrid male brook charr from June to November. AA: anadromous brook charr; AR: anadromous/resident hybrids; RA: resident/anadromous hybrids; RR: resident fish. Results are expressed as mean \pm standard error. Black symbols indicate sexually immature fish and white symbols mature fish. June: number of females varied from 56 to 78, and number of males from 64 to 79; August: number of females varied from 8 to 18, and number of males from 8 to 16; November: number of females varied from 14 to 37, and number of males from 8 to 49.

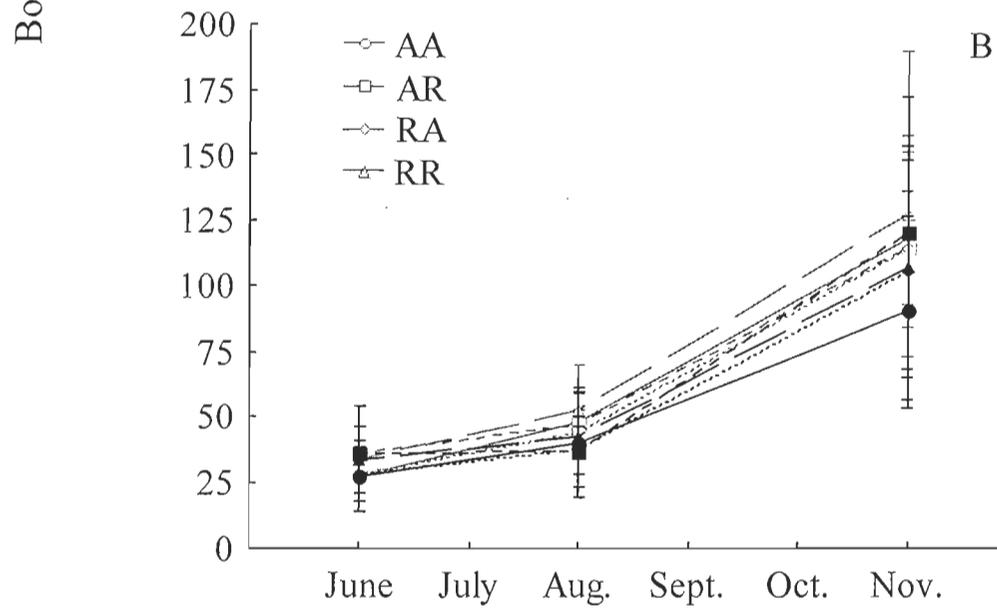
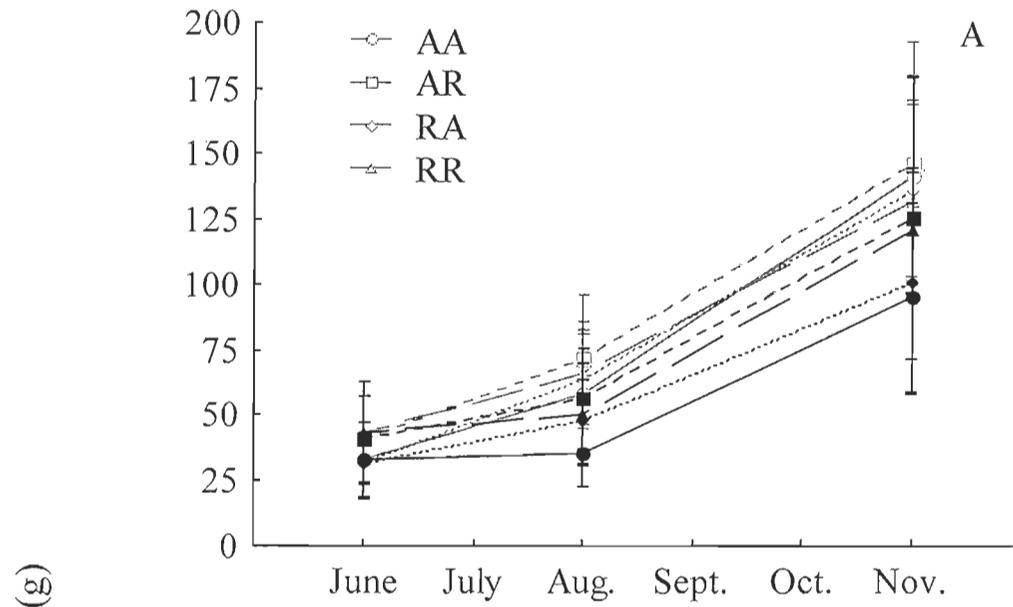
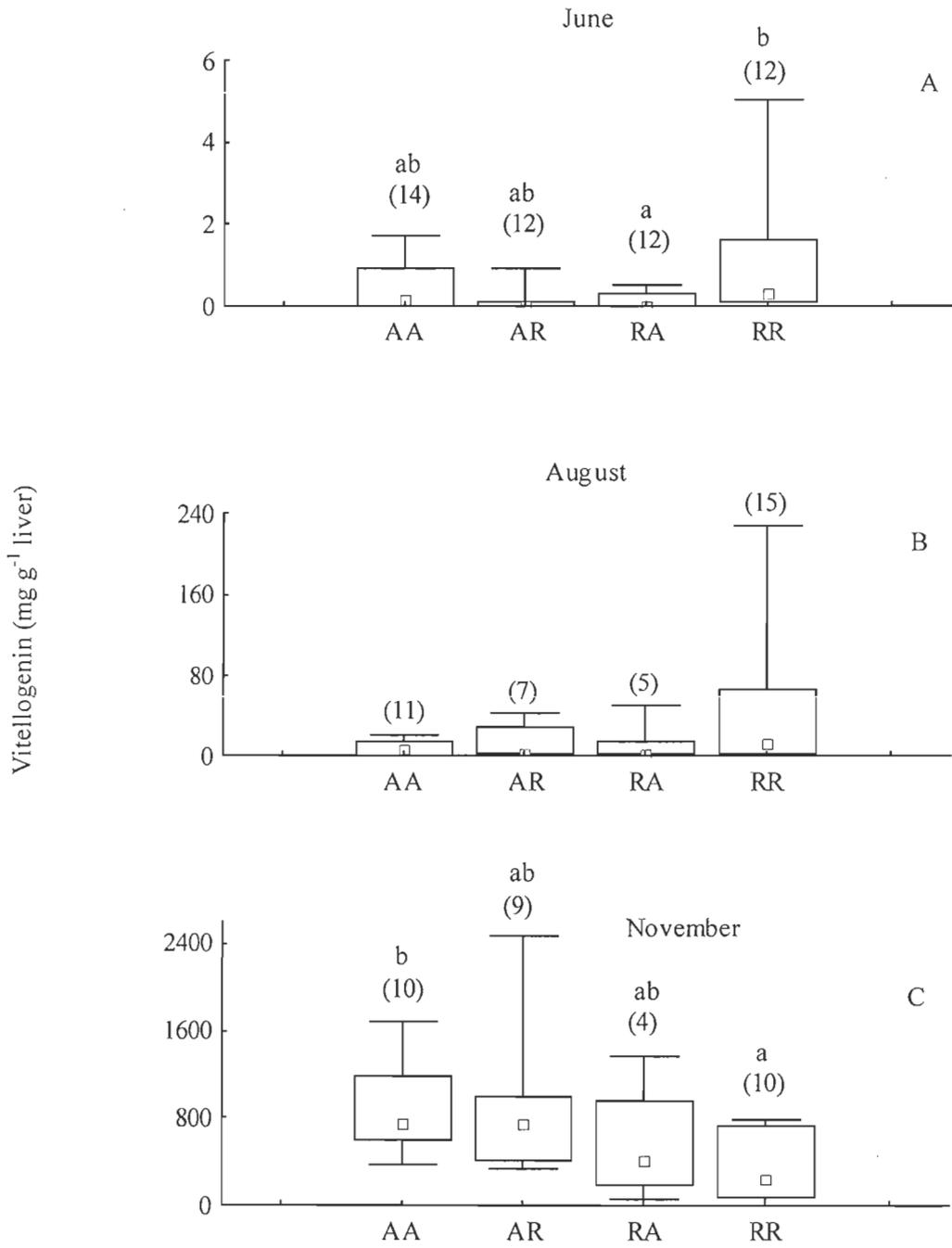


Table 2.2. Condition factor (KF), gonadosomatic index (GSI), and hepatosomatic index (HSI) in 1+ female brook charr (mean \pm SE, n).

GSI	Maturation stage	AA	AR	RA	RR	Cross-type effects
June		0.22 \pm 0.02, 25	0.21 \pm 0.02, 26	0.22 \pm 0.01, 21	0.24 \pm 0.02, 23	
August	Immature	0.24 \pm 0.01, 15	0.24 \pm 0.02, 14	0.20 \pm 0.02, 8	0.24 \pm 0.01, 11	
	Mature	0.40 \pm 0.02, 11	0.42 \pm 0.02, 10	0.41 \pm 0.03, 8	0.87 \pm 0.19, 18	
November	Immature	0.41 \pm 0.03, 32	0.33 \pm 0.02, 35	0.42 \pm 0.05, 28	0.45 \pm 0.04, 32	
	Mature	10.02 \pm 0.38, 31	8.32 \pm 0.93, 37	7.81 \pm 0.99, 14	10.71 \pm 1.08, 21	
KF						
June		0.98 \pm 0.01 ^a , 73	1.03 \pm 0.01 ^b , 71	1.02 \pm 0.01 ^b , 56	1.09 \pm 0.01 ^c , 78	
August	Immature	1.05 \pm 0.03, 16	1.10 \pm 0.02, 14	0.98 \pm 0.05, 8	1.12 \pm 0.02, 10	AA ^a AR ^{ab} RA ^a RR ^b
	Mature	1.06 \pm 0.02, 10	1.10 \pm 0.02, 10	1.11 \pm 0.02, 8	1.15 \pm 0.02, 18	
November	Immature	1.00 \pm 0.01, 32	1.07 \pm 0.01, 35	1.06 \pm 0.02, 28	1.17 \pm 0.02, 32	AA ^a AR ^b RA ^{ab} RR ^c
	Mature	1.08 \pm 0.01, 31	1.12 \pm 0.01, 36	1.07 \pm 0.02, 14	1.22 \pm 0.04, 21	
HSI						
June		1.42 \pm 0.04, 73	1.46 \pm 0.03, 71	1.37 \pm 0.05, 56	1.46 \pm 0.03, 78	
August	Immature	1.35 \pm 0.05, 16	1.52 \pm 0.07, 14	1.38 \pm 0.10, 8	1.43 \pm 0.06, 11	
	Mature	1.59 \pm 0.10, 10	1.45 \pm 0.05, 10	1.46 \pm 0.08, 7	1.70 \pm 0.08, 18	
November	Immature	2.01 \pm 0.06 ^a , 32	2.07 \pm 0.06 ^a , 35	1.96 \pm 0.07 ^a , 28	2.44 \pm 0.09 ^b , 32	
	Mature	2.95 \pm 0.11 ^b , 31	3.11 \pm 0.17 ^b , 37	2.60 \pm 0.19 ^{ab} , 14	1.95 \pm 0.11 ^a , 21	

AA: anadromous; RR: freshwater residents; AR: anadromous/resident hybrids; RA: resident/anadromous hybrids. Bold characters: significant maturation stage effect ($p < 0.05$) and absence of significant interaction between cross-type and maturation stage ($p > 0.05$). Different letters indicate significant difference among cross-types for data presented on the same line. GSI data were log-transformed for statistical analysis, but untransformed data are presented in the table.

Fig. 2.2. Vitellogenin concentrations in mature female brook charr from June to November. AA: anadromous brook charr; AR: anadromous/resident hybrids; RA: resident/anadromous hybrids; RR: resident fish. Each box covers the middle 50 % of the data values (between the lower and upper quartiles) and the whiskers extend up to the minimum and maximum values, while the central point is at the median. Different letters indicate significant differences among cross-types ($p < 0.05$). Numbers of fish (n) are indicated above each data point.



Hepatic glycogen

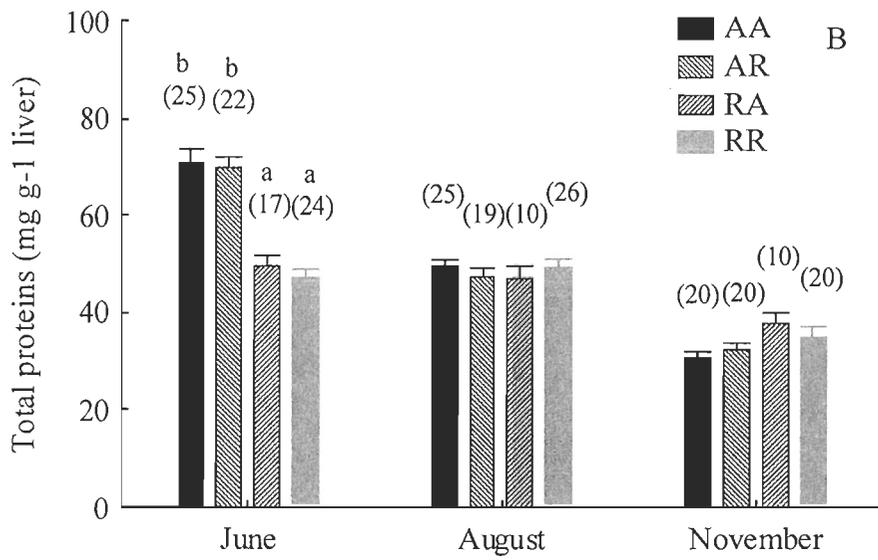
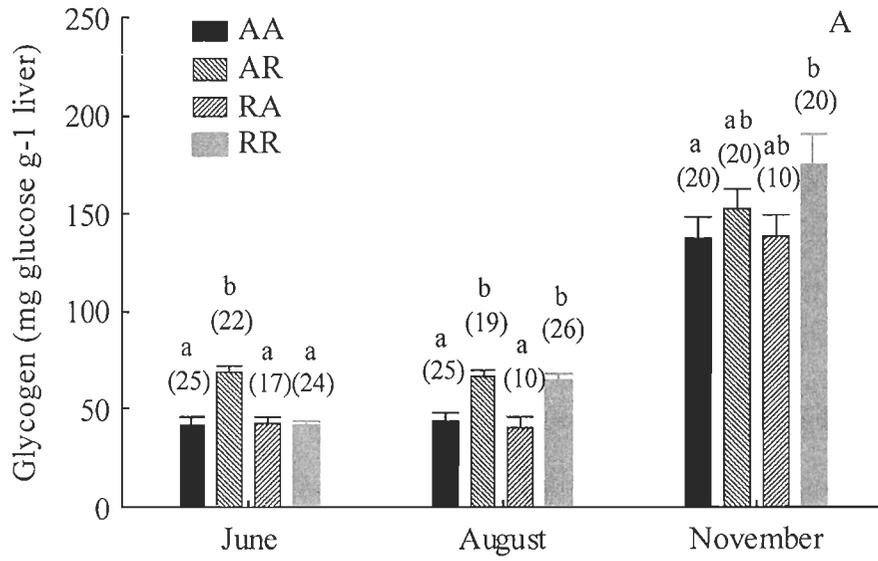
Overall, in August and November, the relative liver glycogen content was more elevated in resident than in anadromous females (Fig. 2.3A), hybrids having either intermediate (November) or similar (August) glycogen content than their paternal line. In August, relative liver glycogen content was significantly lower in immature females ($50.8 \pm 3.4 \text{ mg g liver}^{-1}$, $n = 41$) than in females undergoing gonad development ($61.0 \pm 2.8 \text{ mg g liver}^{-1}$, $n = 39$; MS: $df = 1$, $F = 4.4$, $p < 0.05$; MS \times CT: $df = 3$, $F = 1.0$, $p > 0.05$). On the contrary, in November, glycogen was lower in sexually mature females ($114.8 \pm 6.3 \text{ mg g liver}^{-1}$, $n = 34$) than in immature females ($187.9 \pm 6.8 \text{ mg g liver}^{-1}$, $n = 36$; MS: $df = 1$, $F = 60.2$, $p < 0.001$; MS \times CT: $df = 3$, $F = 1.28$, $p > 0.05$).

Hepatic proteins

In June, resident females had significantly lower hepatic protein content than their anadromous counterparts (Fig. 2.3B). In August, relative hepatic protein content did not differ among cross-types (CT: $df = 3$, $F = 0.6$, $p > 0.05$) or between immature females and those undergoing gonad development (MS: $df = 1$, $F = 2.0$, $p > 0.05$; MS \times CT: $df = 3$, $F = 2.5$, $p > 0.05$). Again, no cross-type difference was observed in November (Fig. 2.3b). However, at this time of the year, relative protein content was significantly lower in immature ($30.5 \pm 1.0 \text{ mg g liver}^{-1}$, $n = 36$) than in sexually mature females ($36.4 \pm 1.3 \text{ mg g liver}^{-1}$, $n = 34$; MS: $df = 1$, $F = 13.2$, $p < 0.001$; MS \times CT: $df = 3$, $F = 0.8$, $p > 0.05$). Hepatic lipid content varied similarly between males and females from June (22.8 ± 0.3

mg/g, n = 189) to November (28.4 ± 0.6 mg/g, n = 110), and increased by 1.25 times regardless of cross-type (CT \times T \times S: F = 1.27, p > 0.05). Overall, hepatic lipid contents were similar between anadromous and residents. RR livers contained significantly lower amounts of lipids (24.2 ± 0.5 mg/g, n = 121) than those of RA hybrids (26.2 ± 0.6 mg/g, n = 84). There was a significant positive correlation between body mass and hepatic lipid content (Fig. 2.4).

Fig. 2.3 A. Hepatic glycogen content of female brook charr from June to November. **B.** Hepatic protein content of female brook charr from June to November. AA: anadromous brook charr; AR: anadromous/resident hybrids; RA: resident/anadromous hybrids; RR: resident fish. Results are expressed as mean \pm standard error. Different letters indicate significant differences among cross-types for each specific sampling time ($p < 0.05$). Numbers of fish (n) are indicated above each data point.



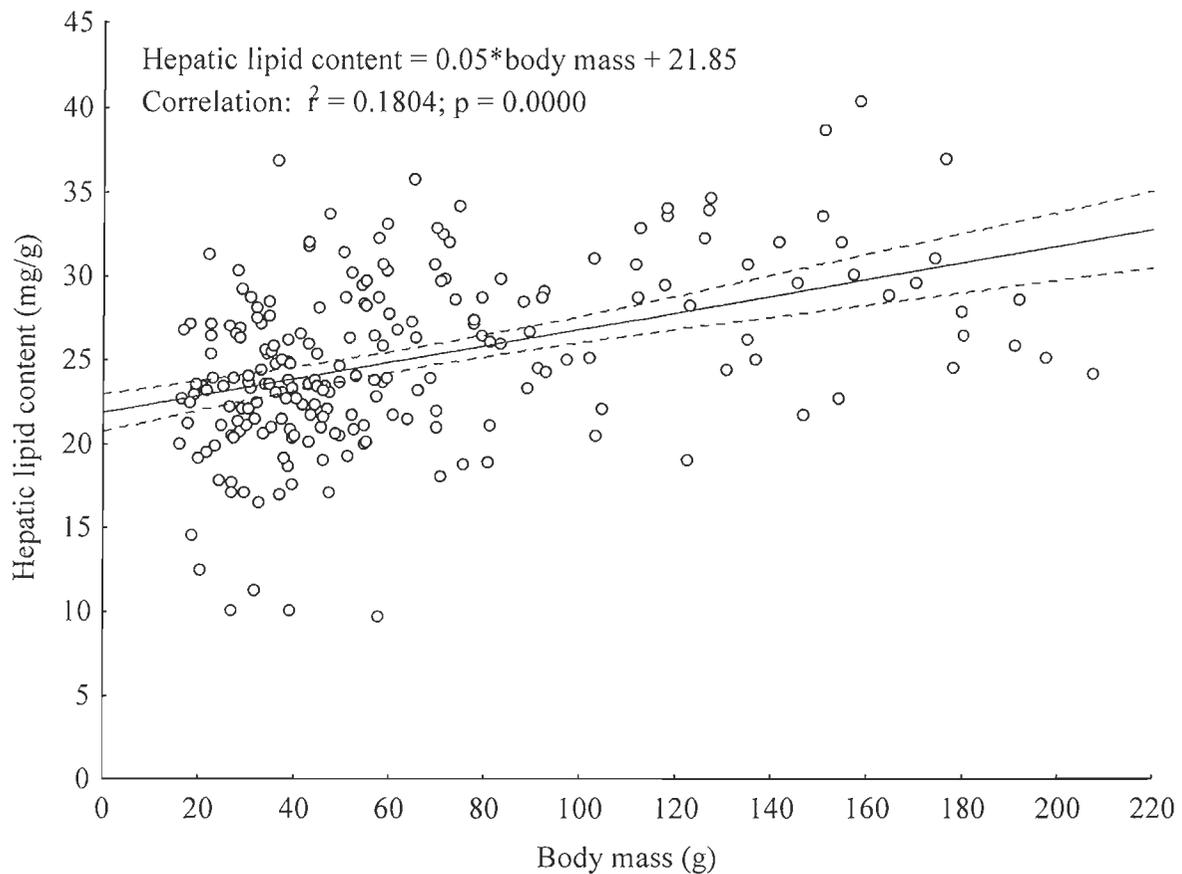


Fig. 2.4. Correlation between body mass and hepatic lipid content in brook charr.

Males

Percentage of early sexual maturation, condition factor and gonadosomatic index

In November, all the males sampled were sexually mature. The percentage of early sexual maturation was 2.8 fold higher in males than in females (Table 2.1). As in females, there was no cross-type effect (CT: $df = 3$, $F = 0.23$, $p > 0.05$) and data obtained at the time of sexual maturation did not show correlation either with mass (ANCOVA, $df = 1$, $F = 0.05$, $p > 0.05$) or length (ANCOVA, $df = 1$, $F = 0.98$, $p > 0.05$; Fig. 2.1 and Table 2.3).

In June, KF was higher in freshwater resident males than in males from other cross-types (CT: $df = 3$, $F = 10.7$, $p < 0.001$; Table 2.3). In August and November, KF was higher in males that were undergoing gonad maturation (Table 2.3). In November, KF was higher in freshwater resident than in anadromous males, regardless of maturation stage (CT: $df = 3$, $F = 34.9$, $p < 0.001$; Table 2.3). KF values of both reciprocal hybrids were intermediate (Table 2.3).

In June, GSI values were very low and similar among cross-types (Table 2.3). In August, the GSI of mature and immature males varied differently among cross-types (CT: $df = 3$, $F = 5.5$, $p < 0.01$; MS: $df = 1$, $F = 182.0$, $p < 0.001$; CT \times MS: $df = 3$, $F = 4.8$, $p < 0.01$; Table 2.3). In immature males, there was no difference between cross-types, while in mature males, GSI was markedly higher in residents than in other cross-types (Table 2.3). In November, the GSI of mature and immature males varied differently among cross-types (CT: $df = 3$, $F = 8.1$, $p < 0.001$; MS: $df = 1$, $F = 1692.9$, $p < 0.001$; CT \times MS: $df = 3$, $F = 7.0$, $p < 0.01$; Table 2.3). GSI was similar in all immature males (Table 2.3). In mature males, both reciprocal hybrids had the highest GSI, while anadromous had higher GSI than freshwater residents (Table 2.3).

Table 2.3. Condition factor (KF), gonadosomatic index (GSI), and hepatosomatic index (HSI) of 1+ male brook charr (mean \pm se, n).

GSI	Maturation stage	AA	AR	RA	RR	Cross-type effects
June		0.09 \pm 0.01, 25	0.15 \pm 0.02, 24	0.16 \pm 0.03, 18	0.12 \pm 0.01, 27	
August	Immature	0.08 \pm 0.02, 10	0.07 \pm 0.01, 10	0.11 \pm 0.02, 8	0.10 \pm 0.02, 5	
	Mature	0.79 \pm 0.09 ^a , 14	0.98 \pm 0.11 ^a , 16	1.08 \pm 0.11 ^a , 16	2.37 \pm 0.37 ^b , 16	
November	Immature	0.21 \pm 0.15, 18	0.09 \pm 0.02, 22	0.08 \pm 0.01, 8	0.07 \pm 0.02, 17	
	Mature	2.98 \pm 0.16 ^b , 27	3.60 \pm 0.09 ^c , 49	3.36 \pm 0.27 ^{bc} , 32	2.29 \pm 0.10 ^a , 47	
KF						
June		1.01 \pm 0.01 ^a , 73	1.05 \pm 0.01 ^a , 79	1.03 \pm 0.01 ^a , 64	1.10 \pm 0.02 ^b , 72	
August	Immature	1.05 \pm 0.03, 10	1.12 \pm 0.03, 10	1.14 \pm 0.03, 8	1.14 \pm 0.03, 5	
	Mature	1.15 \pm 0.02 , 14	1.14 \pm 0.02 , 16	1.11 \pm 0.01 , 16	1.21 \pm 0.03 , 16	
November	Immature	1.04 \pm 0.01, 17	1.09 \pm 0.01, 22	1.07 \pm 0.03, 8	1.24 \pm 0.03, 17	AA ^a AR ^b RA ^{ab} RR ^c
	Mature	1.13 \pm 0.01 , 27	1.17 \pm 0.01 , 49	1.12 \pm 0.03 , 32	1.32 \pm 0.02 , 47	
HSI						
June		1.48 \pm 0.03 ^b , 74	1.48 \pm 0.04 ^b , 78	1.35 \pm 0.03 ^a , 64	1.40 \pm 0.03 ^{ab} ,	
August	Immature	1.48 \pm 0.06, 10	1.41 \pm 0.08, 10	1.33 \pm 0.06, 8	1.34 \pm 0.09, 5	
	Mature	1.50 \pm 0.04, 14	1.41 \pm 0.05, 16	1.32 \pm 0.05, 16	1.42 \pm 0.06, 16	
November	Immature	1.84 \pm 0.09 ^a , 17	2.03 \pm 0.05 ^a , 22	1.95 \pm 0.14 ^a , 8	2.52 \pm 0.09 ^b , 17	
	Mature	1.48 \pm 0.08, 27	1.68 \pm 0.05, 48	1.60 \pm 0.09, 32	1.58 \pm 0.05, 47	

AA: anadromous; RR: freshwater residents; AR: anadromous/resident hybrids; RA: resident/anadromous hybrids. Bold characters: significant maturation stage effect ($p < 0.05$) and absence of significant interaction between cross-type and maturation stage ($p > 0.05$). Different letters indicate significant differences among cross-types for data presented on the same line. GSI data were log-transformed for statistical analysis, but untransformed data are presented in the table.

Hepatosomatic index

In June, HSI values in anadromous and resident males were similar (Table 2.3) and HSI value in RA hybrids was the lowest. In August, no cross-type effect was present. In November, immature resident males had significantly higher HSI than immature fish from other cross-types, but no cross-type effect was present in mature fish (Table 2.3).

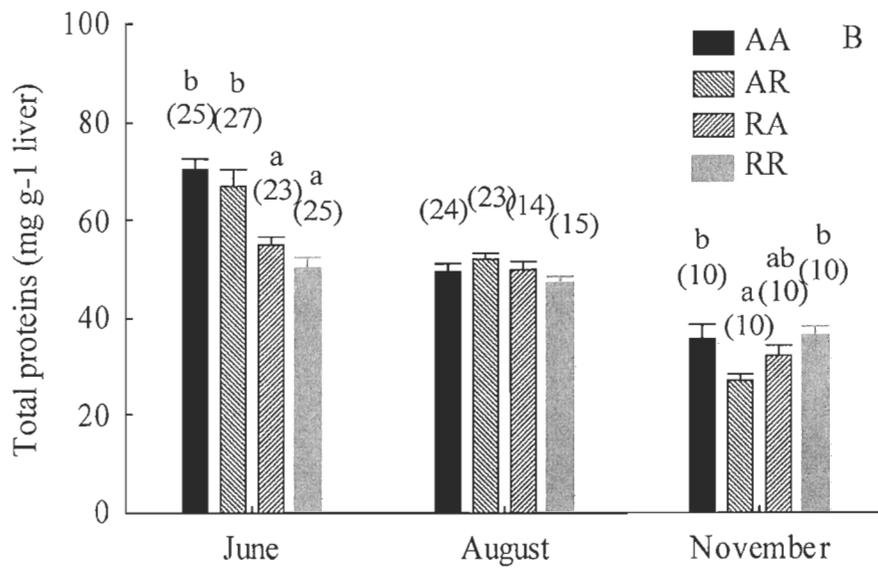
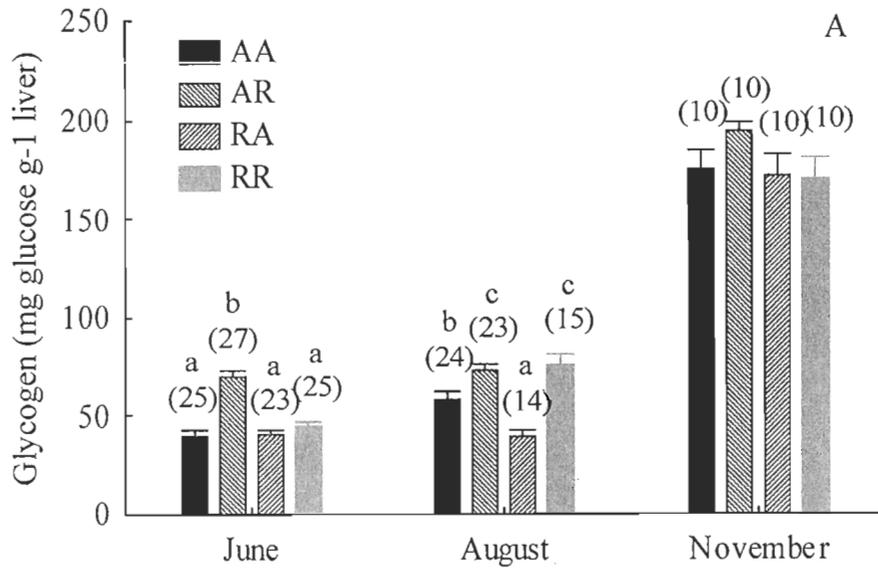
Hepatic glycogen and proteins

In June and November, hepatic glycogen content was similar between anadromous and resident males (Fig. 2.5A). However, resident males had higher glycogen content than anadromous ones in August (Fig. 2.5A). In August, the livers of immature males contained 1.28 times less glycogen ($53.6 \pm 3.5 \text{ mg g}^{-1}$, $n = 29$) than those with developing gonads ($68.4 \pm 2.9 \text{ mg g}^{-1}$, $n = 47$) (MS: $df = 1$, $F = 14.2$, $p < 0.001$). A large increase in hepatic glycogen content occurred in all males from August to November. No cross-type effect was present in November. Hybrids differed from one another except in November.

In males, hepatic protein content decreased from June to November (Fig. 2.5B). In June, residents had significantly lower hepatic protein content than their anadromous counterparts, with hybrids showing values similar to their corresponding maternal line (CT: $df = 3$, $F = 13.4$, $p < 0.001$; Fig. 2.5B). These cross-type effects were no longer present in

August. In November, anadromous and freshwater resident males had similar hepatic protein content, both higher than in AR hybrids (CT: $df = 3$, $F = 4.0$, $p < 0.05$; Fig. 2.5B).

Fig. 2.5 A. Hepatic glycogen content of male brook charr from June to November. **B.** Hepatic protein content of male brook charr from June to November. AA: anadromous brook charr; AR: anadromous/resident hybrids; RA: resident/anadromous hybrids; RR: resident fish. Results are expressed as mean \pm standard error. Different letters indicate significant differences among cross-types for each specific sampling time ($p < 0.05$). Numbers of fish (n) are indicated above each data point.



Heritability, parental effects and Q_{ST} estimates

Heritability estimates for body mass were relatively high both for anadromous and for resident fish, albeit being lower in the latter while the EBV variance was very high in both pure lines (Table 2.4). KF heritability was different between the pure lines, with a low and non significant value in anadromous fish and a much higher value in residents (Table 2.4). The EBV variance was very low in both lines (Table 2.4). Heritability estimates for HSI were high in residents but low in anadromous fish, and the EBV variance was very low in both pure lines (Table 2.4).

Heritability estimates for hepatic lipid content were low in anadromous fish and null in residents (Table 2.4). The same trend occurred for EBV variance in both cross-types (Table 2.4). In contrast, heritability estimates and EBV variance for hepatic glycogen content were high in anadromous but null in residents (Table 2.4). Heritability estimates and EBV variance for hepatic protein content were very low in both anadromous and residents (Table 2.4).

Ratios of parental (dam and sire) variance on phenotypic variance for body mass were low, suggesting that there was no significant parental effect for this trait (Table 2.5). There was no significant maternal effect for KF and HSI, as indicated by the low ratios of maternal variance on phenotypic variance for these traits (Table 2.5). However, the ratio of

sire variance suggests the occurrence of a slight paternal effect for KF (Table 2.5). Ratios of parental (dam and sire) variance on phenotypic variance indicate a high sire effect on hepatic glycogen content, but no other significant parental effect on hepatic reserves (Table 2.5).

Table 2.4. Heritability estimates ($h^2 \pm se$) and variance of breeding values (σ^2 EBV) of physiological traits measured in anadromous (AA) and resident (RR) 1+ brook charr during summer.

Trait	AA h^2	RR h^2	AA σ^2 EBV	RR σ^2 EBV
Body mass	0.60 \pm 0.35	0.40 \pm 0.28	114.259	75.819
KF	0.07 \pm 0.12	0.56 \pm 0.33	0.000	0.005
HSI	0.21 \pm 0.20	0.65 \pm 0.35	0.011	0.037
Hepatic glycogen	0.87 \pm 0.38	0.00 \pm 0.00	242.160	0.000
Hepatic lipids	0.18 \pm 0.18	0.00 \pm 0.00	1.499	0.000
Hepatic proteins	0.06 \pm 0.12	0.00 \pm 0.08	2.683	0.000

Table 2.5. Ratios of parental (dam and sire) variance on phenotypic variance in anadromous (AA) and resident (RR) 1+ brook charr during summer.

Trait	Dam	Sire
Body mass	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
KF	0.05 \pm 0.10	0.11 \pm 0.18
HSI	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
Hepatic glycogen	0.00 \pm 0.00	0.44 \pm 0.39
Hepatic lipids	0.06 \pm 0.13	0.00 \pm 0.00
Hepatic proteins	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00

Q_{ST} estimates for body weight and physiological indices were globally higher than the estimate of neutral genetic variance ($F_{ST} = 0.153$, 95% CI = 0.071-0.214), except for KF (Table 2.6). Q_{ST} estimates for hepatic lipids, glycogen and proteins were higher than the estimate of neutral genetic variance ($F_{ST} = 0.153$, 95% CI = 0.071-0.214; Table 2.6).

Table 2.6. Quantitative genetic variation in phenotype (Q_{ST}) of physiological traits measured in anadromous (AA) and resident (RR) 1+ brook charr after 14 days in salt water. σ^2_{bw} is the phenotypic variance between populations, and σ^2_{wn} the within-population quantitative genetic variance.

Trait	σ^2_{bw}	σ^2_{wn}	Q_{ST}
Body weight	258.300	510.100	0.336
KF	0.019	0.100	0.163
HSI	0.002	0.002	0.500
Hepatic glycogen	139.600	317.600	0.305
Hepatic lipids	2.440	4.077	0.374
Hepatic proteins	64.070	14.390	0.817

DISCUSSION

The main aim of this study was to assess whether gonad development, storage and use of hepatic energy reserves varied in different ways between anadromous and freshwater resident brook charr during transition from the juvenile to the adult stage. We found that vitellogenin production, gonad development (GSI), and variations in hepatosomatic index (HSI) indicate differences between the two forms (Table 2.7), differences that seem to be at least partly explained by quantitative genetic differences between resident and anadromous populations.

Divergence of traits linked to life history in anadromous and resident brook charr

Occurrence of early maturation was similar in 1+ females of both forms. However, the higher vitellogenin values in August in mature resident females compared to anadromous ones, and the reverse situation observed in November indicates different rates of sexual maturation between the two forms even in presence of similar environmental rearing conditions. This confirms results obtained in the field (Thériault *et al.*, 2007a) and suggests a strong genetic basis underlying reproduction timing in females. The lowest HSI values observed in resident maturing females compared to anadromous ones may suggest lower costs related to vitellogenesis in the former, since vitellogenesis occurs in the liver and usually peaks during sexual maturation (Kwon *et al.*, 2001). Indeed, the lower hepatic

Table 2.7. Summary of differences between anadromous and resident brook charr for all the studied phenotypic traits.

Trait	Sampling	Difference between AA and RR	
		Females	Males
Percentage of maturation		No	No
GSI	June	No	No
	August	No	AA < RR (M)
	November	No	AA > RR (M)
KF	June	AA < RR	AA < RR
	August	AA < RR	No
	November	AA < RR	AA < RR
HSI	June	No	No
	August	No	No
	November	AA < RR (I) AA > RR (M)	AA < RR
Vitellogenin	June	No	-
	August	No	-
	November	AA > RR	-
Hepatic glycogen	June	No	No
	August	AA < RR	AA < RR
	November	AA < RR	No
Hepatic lipids	June	No	No
	August	No	No
	November	No	No
Hepatic proteins	June	AA > RR	AA > RR
	August	No	No
	November	No	No

I: immature stage; M: mature stage

glycogen content in mature compared to immature females in November supports the notion that glycogen has been utilized to sustain development and growth of gonadal

tissues and oocytes. The important role of hepatic glycogen, not only in gonadal development, but also in other physiological functions such as fish metabolism, have been demonstrated in several studies on other teleost species (Rios *et al.*, 2006; Heermann *et al.*, 2009).

Interestingly, the heritability estimates of hepatic glycogen content as well as the EBV variance of this trait were very high in anadromous fish, which implies that this trait could be efficiently selected in this cross-type. Moreover, the high level of temporal variance in anadromous charr suggested that glycogen could also vary significantly in function of the environmental conditions they would experience. This could represent an adaptative strategy of energy storage and metabolism to deal with seasonal changes and local patterns (Collins and Anderson, 1995; Hurst, 2007; Finstad *et al.*, 2010). A high level of flexibility in energy storage would also be useful to overcome the periods of low food production and risk of starvation occurring in seasonal climates (Huss *et al.*, 2008). On the other hand, the very low heritability of hepatic glycogen content in resident fish strongly suggests that its expression depends almost entirely on non additive genetic variance in this cross-type. The relatively high Q_{ST} value for this trait also suggests that it has been differentially selected in anadromous and resident brook charr of the Laval River, and as such may have played an important role in adaptive divergence of both forms. Crespel *et al.* (2011) observed that anadromous brook charr from the Laval River accumulated low energy reserves by the onset of winter, while domestic brook charr accumulated a high

amount of energy reserves before winter. The maintenance of relatively low energy reserves prior to winter season in anadromous brook charr from the Laval River was likely a consequence of the utilization of these reserves to sustain the physiological processes related to sexual maturation. Since the domestic and Laval strains are also genetically very distinct, their different strategies in reserve allocation may also reflect adaptive responses to distinct living conditions (Collins and Anderson, 1995; Hurst, 2007; Finstad *et al.*, 2010).

In males, hepatic glycogen content increased in residents but not in anadromous fish and GSI values were higher in the former during summer. This would suggest a greater reproductive investment by maturing resident males. On the other hand, no difference in hepatic glycogen content was found between anadromous and resident males in November, which could be related to the relatively low cost of reproduction in males (Berg *et al.*, 1998), regardless of life history strategy. Indeed, while females have to invest massive amounts of reserves to produce their eggs and vitellogenin to ensure endogenous feeding of their embryos, male gonadal and gametic development only require a minor part of their energetic reserves (Berg *et al.*, 1998). In the field, male salmonids normally invest considerable amounts of energy in their fighting behaviour during the spawning period, with an increase in their metabolic rate while on the spawning grounds (Brett, 1995). However, since fish of the present study were all reared in the same controlled conditions, there were no spawning grounds to reach or defend, thus no need for males to spend energy in fighting.

In both forms, the percentage of maturing males at 1+ was similar and high (70.0 to 80.0 %), which is not surprising since high occurrence of early sexual maturation is a common feature in male salmonids (brown trout (*Salmo trutta*): Dellefors and Faremo, 1988; Atlantic salmon (*Salmo salar*): Fleming, 1996; brook charr: Thériault and Dodson, 2003).

The significant differences observed between anadromous and resident fish for KF, along with significant heritability values for the resident fish (but not for anadromous fish) suggest that differences for this trait between populations are partly genetically based. However, the fact that Q_{ST} estimate for this trait did not differ from neutral expectation suggests that these differences could be explained by neutral processes (e.g. genetic drift) only. On the other hand, in some fish species, KF is strongly correlated with the amount of energetic reserves (Herbinger and Friars, 1991; Neff and Cargnelli, 2004; Wysujack *et al.*, 2009) but it also confers a general morphological shape that is an important factor for swimming efficiency in brook charr (Morinville and Rasmussen, 2008). The lower KF of anadromous fish confer a more streamlined body shape and Fraser and Bernatchez (2005) showed that migrant brook charr swim more efficiently than their resident (or sedentary) counterparts. Indeed, a more streamlined morphology in fast water reduces swimming costs by minimizing the effects of drag (Pettersson and Brönmark, 1999). Yet, despite potential swimming advantage associated with a lower KF, and as mentioned above, the Q_{ST} value of KF was similar to the F_{ST} value calculated by Perry *et al.* (2005) for brook charr from the

Laval River. In this context, a variation in KF among individuals adopting different life history strategies or at different maturation stages could be a consequence of divergent selective pressures on other physiological traits highly correlated with KF, such as endogenous body reserves but not on KF per se.

Except for KF, Q_{ST} values for all traits also considered in the present study were globally higher than the F_{ST} calculated by Perry *et al.* (2005) for resident and anadromous brook charr of the Laval River, suggesting that the effect of divergent selection was important in driving observed differences for these traits. The F_{ST} value from this river was high, indicating an important level of neutral genetic divergence between anadromous and residents (Whitlock, 1999; Merilä and Crnokrak, 2001). This F_{ST} was not only higher than the values measured in other brook charr populations (Castric and Bernatchez, 2003), but also than the values measured in other salmonid species with sympatric anadromous and resident individuals, such as bull trout (*Salvelinus confluentus*; Homel *et al.*, 2008) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*; Heath *et al.*, 2008). The fact that the Q_{ST} values of all traits, except KF, were significantly higher than the F_{ST} value suggests that divergent natural selection, rather than neutral genetic processes such as genetic drift, migration and mutation, has potentially played an important role in the genetic differentiation between anadromous and residents originating from the Laval River for the physiological traits measured in the present study. Such divergent selective pressures may have favored the evolution of intrinsic mechanisms for the maintenance of reproductive isolation and

restriction to gene flow between anadromous and resident populations (Perry *et al.*, 2005). If divergent selection pressures actually shaped the genetic differentiation between both forms for those traits, it is possible that those pressures eventually lead to speciation events if they are maintained. Values of Q_{ST} exceeding those of F_{ST} have been reported in several species on a variety of traits, especially morphological ones (Merilä and Crnokrak, 2001).

Several field studies (Silverstein and Hershberger, 1992; Heath *et al.*, 1994; Wild *et al.*, 1994; Mousseau *et al.*, 1998; Heath *et al.*, 2002; Thrower *et al.*, 2004) provided heritability estimates on threshold behavioural or morphological quantitative traits, while the present study focused more on providing heritability estimates for physiological quantitative traits under controlled laboratory conditions. Thériault *et al.* (2007a) also calculated heritability estimates of life-history tactics (anadromy and residency), but in brook charr under natural conditions and originating from the same genetic pool. The heritability values obtained in these studies, as in the present study, were highly variable depending on the trait (i.e. from null to high). Heritability depends on the magnitude of all components of variance and a change in any one of these components will affect it (Falconer and Mackay, 1996). Heritability also depends on the amount of selection applied for a given trait. Life-history traits under continuous natural selection are predicted to have reduced additive genetic variance, thus lowered heritability (Falconer and Mackay, 1996). Moreover, heritability values are not only a property of the traits themselves, but also of the population under study and the environmental conditions in which they are measured

(Stearns, 1992; Falconer and Mackay, 1996; Thériault *et al.*, 2007a; Visscher *et al.*, 2008). So, relatively uniform environmental conditions—as in our study in controlled conditions—should increase heritability values by reducing the environmental component of the variance (Falconer and MacKay, 1996), even though levels of heritability typically measured under laboratory conditions are comparable to those that occur in the natural environment (Weigensberg and Roff, 1996).

Traits that varied in function of factors other than life history strategy

Some physiological traits did not show significant divergence between anadromous and freshwater resident brook charr, such as hepatic lipid and protein contents. Hepatic lipid content clearly increased, though slightly, from June to November, regardless of cross-type or sex. The replenishment of stored lipid is important for the maintenance of maturation (Rowe *et al.*, 1991; Kadri *et al.*, 1996), and it is the primary energy source that sustains reproduction in some salmonids (Kadri *et al.*, 1996; Adams and Huntingford, 1997). Hepatic lipid content does not have a strong genetic basis, at least in resident fish, as reflected by low heritability and EBV values for this trait. Thus, hepatic lipid content apparently varies mainly as a function of environmental conditions or physiological requirements for metabolism and reproduction.

Except in June, when it was higher in anadromous than in male and female freshwater resident brook charr, hepatic protein content did not show any divergence between both pure cross-types. These results indicate that proteins, especially in anadromous fish, were mainly utilized during summer and other reserves during autumn. This delay in resource utilization could be related to the roles of different energetic reserves. It is known that proteins play a role in sustaining metabolism and also act as building materials for the cellular machinery involved in gonad cell mitosis and the formation of cell junctions between those cells (Mommssen, 2004). Proteins also play a pivotal role in vitellogenesis (Wiegand, 1996).

Physiological responses of hybrid brook charr

Our initial hypothesis related to hybrids was that they would show intermediate (or additive) values for the physiological traits studied. However, few additive physiological responses were observed, namely for vitellogenin, hepatic glycogen concentrations, and HSI in females in November, as well as for KF at all sampling periods, and most of the results obtained in this study rather suggest that other types of genetic controls predominate in the hybrid background. Traits for which only nonadditive physiological responses were observed, namely hepatic lipid and protein concentrations, generally had low heritability values. No significant parental effects were found for those two traits either, suggesting that they are regulated by other types of genetic mechanisms, possibly dominance or epistasis, as it seems to usually happen with nonadditive responses (Falconer and Mackay, 1996).

Another laboratory experiment (Bougas *et al.*, 2010) have shown a majority of nonadditive responses in transcription regulation inheritance of hybrids resulting from crosses between the Rupert and Laval populations of brook charr. These authors have also found a positive correlation between the extent of nonadditive transcription regulation inheritance in hybrids and the genetic distance between parental populations. Thus, hybrids resulting from crosses between the most genetically distant parental populations (Rupert and Laval) showed more nonadditive transcripts than any other hybrid crosses (Bougas *et al.*, 2010). The majority of nonadditive physiological responses in hybrids observed in the present study could also be related with genetic distance between both pure cross types, since the level of neutral genetic divergence between anadromous and freshwater resident brook charr of the Laval River, as expressed by the F_{ST} value, was found to be high (Perry *et al.*, 2005).

KF was one of the only traits where values of both hybrids were intermediate to those of pure crosses over the course of the experiment, except for males in June and August, which implies that this trait was likely maintained by additive genetic mechanisms.

The high GSI values observed in AR maturing males in November suggest a higher relative energetic investment in gonadal tissue in this hybrid. This was one of the only cases of heterosis (i. e. a phenotypic trait for which the mean was significantly higher in hybrids than in both parents or in parental populations) in the present study. In June, low HSI in RA males relative to pure crosses suggests a lower hepatic activity, and presumably

a lower production of hepatic reserves or structural components, in this hybrid. This could be reflected in the lower hepatic protein concentration of RA hybrids compared to residents in June. A maternal effect could explain the hepatic protein contents measured in June in male and female hybrids since they were similar to their corresponding maternal line. The maternal genetic variance on physiological traits associated with energy reserve accumulation appears to be lower in adults than at the alevin stage, prior to yolk sac resorption (Heath *et al.*, 1999; Perry *et al.*, 2004; 2005). The fact that the hepatic protein content was globally lower in November than in August further emphasizes the main utilization of this energy source during summer, in the early stages of sexual maturation. The accumulation of reserves in the liver was generally neither lower nor higher in hybrids than in pure crosses. Vitellogenin concentrations of hybrids were intermediate between those of pure strains in November, which suggests an additive genetic component for this physiological trait. These results, along with the concentrations of reserves, also suggest an intermediate reproduction cost for hybrids relative to pure crosses.

Physiological responses of brook charr in the ecological context of the Laval River

Hepatic glycogen concentrations, along with HSI results, suggest that resident female brook charr of the Laval River spawned sooner than their anadromous counterparts, probably because they mainly use their hepatic glycogen reserves to fuel their sexual maturation during autumn. Indeed, they do not have to spend energy to migrate and overcome hurdles linked to changing environmental conditions like their anadromous

counterparts. In the latter, the shortening photoperiod of late summer induces sexual maturation that must be completed in freshwater (Curry *et al.*, 2006). Consequently, anadromous charr are forced to move from rich feeding areas into suboptimal thermal and feeding habitats of the river, where feeding is reported to be reduced (Naiman *et al.*, 1987; Curry *et al.*, 2006). They also have to go through unfavourable, warm waters to reach these poorer feeding habitats before spawning (Curry *et al.*, 2006).

As indicated by their high heritability values hepatic glycogen reserves of anadromous brook charr seem to have a strong additive genetic basis. In the ecological context of the Laval River, high heritability values for this trait in anadromous fish could have been maintained by balancing selection associated with the use of contrasting habitats (freshwater and coastal marine waters) by those fish. Resident brook charr of the Laval River do not have to experience such fluctuations in their environmental conditions during their sexual maturation period. It is possible that the patterns of hepatic glycogen accumulation and mobilization of anadromous brook charr that were observed in this study were representative of the physiological responses that would be observed in the ecological context of their native system, namely the Laval River, even though they were not exposed to the same environmental conditions, because levels of heritability measured under laboratory conditions are usually comparable to those that occur in the natural environment (Weigensberg and Roff, 1996).

Conclusions

In summary, our results provided further evidence for the occurrence of genetically based differences in physiological traits related to reproduction between resident and anadromous brook charr from the Laval River. Such differences, along with the values of Q_{ST} generally higher than the level of neutral genetic variation, may reflect the outcomes of divergent selective pressures that maintained the local adaptations associated with both life history strategies within the Laval River system (Perry *et al.*, 2005). In the present study, one of the first to provide heritability estimates for physiological quantitative traits in brook charr, traits related to reproduction were generally more heritable in anadromous than in resident fish, but heritability and variance of EBV were sometimes low in both cross-types. Consequently, these results suggest that the potential of brook charr to respond to selective pressures would vary according to specific traits and life history strategies, and that external or internal environmental cues would also be very important to determine physiological responses for traits related to reproduction. Producing hybrids did not seem to have any significant advantage or disadvantage for reproductive investment, because there were no clear cases of inbreeding depression or heterosis in our results. Future research on energy allocation in sympatric anadromous and freshwater resident brook charr should focus on tissue-specific responses of several metabolic enzymes and expression of the corresponding genes in the field, from the juvenile stage to spawning time.

CHAPITRE 3
RÉPONSES PHYSIOLOGIQUES ET HÉRITABILITÉ DE TRAITS LIÉS À LA
MIGRATION CHEZ DES OMBLES DE FONTAINE (*SALVELINUS*
***FONTINALIS*) ANADROMES, RÉSIDENTS ET HYBRIDES**

3.1 RÉSUMÉ

L'objectif principal de cette étude était de déterminer si des ombles de fontaine anadromes et résidents de deux populations distinctes présentaient des différences physiologiques pour des traits associés à la migration, et si ces traits avaient une base génétique significative. Des ombles anadromes (A) et résidents (R) provenant du même bassin hydrographique ont été utilisés pour produire quatre types de croisements ($\text{♀A}\text{♂A}$, $\text{♀A}\text{♂R}$, $\text{♀R}\text{♂A}$, et $\text{♀R}\text{♂R}$). Les conditions d'élevage étaient identiques pour tous les types de croisement, de la période d'incubation des œufs jusqu'à l'âge de 22 mois. Les poissons ont été transférés en eau salée estuarienne au mois de juin de leur second été. Aucun effet de croisement ne s'est produit pour l'expression relative du gène de la cathepsine L, peut-être en raison de la variance d'expression élevée au sein de chacun des croisements. Cependant, ce trait était fortement héritable chez les anadromes ($h^2 = 0,72$), mais pas chez les résidents ($h^2 = 0,06$). Les activités hépatiques, spécifique et totale, de la cathepsine L étaient plus élevées chez les anadromes que chez les résidents en août. Ces différences d'activité de la cathepsine L pourraient refléter les besoins énergétiques différents associés aux stratégies anadrome et résidente durant la montaison. En effet, dans le contexte de la rivière Laval, les anadromes sont confrontés à des conditions environnementales plus variables et doivent parcourir de plus grandes distances que les résidents pour atteindre leur site de frai. Les valeurs d'héritabilité pour ces traits étaient modérées chez les anadromes ($h^2 = 0,35$ et $0,44$, respectivement) et faibles chez les résidents ($h^2 = 0,08$ et $0,04$). Le fait

que l'héritabilité de ces traits ait été plus élevée chez les anadromes pourrait refléter un plus grand potentiel de réponse de ces derniers à des pressions de sélection associées à un environnement variable. Il n'y avait aucune différence entre les croisements associée à l'activité musculaire de la cathepsine L. De plus, cette activité n'a pas varié durant l'été, en dépit de la décroissance de la concentration musculaire de protéines durant la même période. Cette décroissance pourrait donc être attribuable à l'activité d'autres enzymes protéolytiques, telles que la cathepsine D et les calpaines. Les concentrations musculaires de glycogène et lipides ont également diminué durant l'été, tout comme le pourcentage d'eau musculaire, mais de façon peu importante. Les deux types d'hybrides présentaient un pourcentage d'eau musculaire supérieur à celui des résidents. Un effet paternel a été observé pour l'activité hépatique de la cathepsine L. Toutefois, aucun autre effet parental n'a été observé. Globalement, les résultats obtenus suggèrent que les ombles anadromes et résidents de la rivière Laval ont des besoins énergétiques différents durant la montaison et possèdent un potentiel de réponse à la sélection différent pour certains traits associés à la migration.

3.2 PHYSIOLOGICAL RESPONSES AND HERITABILITY OF TRAITS RELATED TO MIGRATION IN ANADROMOUS, RESIDENT AND HYBRID BROOK CHARR (*SALVELINUS FONTINALIS*)

INTRODUCTION

Cathepsins are lysosomal cysteine endoproteases (Kwon *et al.*, 2001; Kao and Huang, 2008) expressed in nearly all tissues (Brooks *et al.*, 1997; Fabra and Cerdà, 2004). In fishes, they play a prominent role in controlling protein degradation, which is a highly selective and regulated process that provides the energy that is required to sustain migration and, ultimately, allows successful reproduction (Attaix *et al.*, 1999; Hershko *et al.*, 2000; Nielsen and Nielsen, 2001; Mommsen, 2004; Salem *et al.*, 2006). Indeed, activity of cathepsins, especially cathepsins D and L, generally increases during the spawning migration (Mommsen *et al.*, 1980; Ando *et al.*, 1986; Mommsen, 2004). Cathepsin L is involved in muscle protein breakdown and recycling as building blocks for gonad development, which happens during the spawning migration of many anadromous salmonids (Yamashita and Konagaya, 1992; Nielsen and Nielsen, 2001; Mommsen, 2004). In species undergoing very long migrations, such as chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*), coho (*Oncorhynchus kisutch*) and chum salmon (*Oncorhynchus keta*), proteins are often the only energy source available at the end of the migration and to sustain reproductive processes (Mommsen, 2004). In order to maintain muscle mass and shape, muscular

proteins degraded by cathepsins are often replaced by water (Mommsen, 2004; Salem *et al.*, 2006), resulting in increased muscle water percentage.

In anadromous fish, energetic costs related to spawning migration vary as a function of migration distance, among other environmental and physiological factors (Kinnison *et al.*, 2003). Longer migrations, especially those of Pacific salmon species such as chum salmon that travel on thousands of kilometers, can require the use of a significant proportion of endogenous body reserves (Brett, 1995; Kiessling *et al.*, 2004; Mommsen, 2004; Magnoni *et al.*, 2006; Miller *et al.*, 2009). Yamashita and Konagaya (1990) reported a 40 % decrease in protein concentration, expressed as milligrams per gram, in chum salmon caught during anorexic spawning migration relative to chum salmon caught during feeding migration. By comparison, Salem *et al.* (2006) observed a 11 % decrease in muscle protein concentration in mature rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), a species that undertakes much shorter migrations than chum salmon, during spawning time.

Other factors that likely influence the amount of energy expenditure during spawning migration are feeding and reproductive behaviours of anadromous fish, which greatly vary between salmonid species. Chum salmon and other semelparous salmonids do not feed during their spawning migrations, while rainbow trout and other repeat spawning salmonids never stop feeding (Salem *et al.*, 2006). Brook charr belongs to the latter category.

Brook charr in northeastern North America are known to undergo relatively brief and short migrations to estuaries or nearby coastal waters (Power, 1980; Jones *et al.*, 1997), typically from late April–May to August–September (Dutil and Power, 1980; Lenormand *et al.*, 2004; Curry *et al.*, 2006; Curry *et al.*, 2010). In the Laval River, Quebec, anadromous brook charr move rapidly from the river to the estuary (Curry *et al.*, 2006). Even in the estuarine environment, they are rarely captured beyond a few kilometres of their home river's estuary (Curry *et al.*, 2006). However, it is plausible that they would still need a significant amount of energy to sustain the physiological processes involved in saltwater adaptation and then sustain the costs of swimming, metabolism and sexual maturation during their upstream migration to their freshwater spawning grounds. Thus, Jonsson and Jonsson (1998), which studied energy allocation in anadromous and resident brown trout, another iteroparous salmonid species, have shown that adult anadromous fish accumulate large amounts of lipids in autumn, presumably to sustain sexual maturation or for use during the smolting process.

One way to test physiological adaptations to migration in brook charr, especially those related to cathepsin L activity and expression, would be to compare residents and anadromous individuals from the same hydrographic system. Such an approach could allow evaluating the genetic basis of the physiological processes activated during spawning migration or during summer time before spawning migration occurs. In the Laval River, previous studies have provided evidence for genotypic divergence between anadromous

and resident brook charr (Boula *et al.*, 2002; Perry *et al.*, 2005; Curry *et al.*, 2010). Namely, Perry *et al.* (2005) have shown that the overall neutral genetic divergence between anadromous and resident brook charr within the Laval River was high ($F_{ST} = 0.153$, 95 % CI = 0.071-0.214) relative to values observed within other systems in this species, which generally range between 0.05 and 0.10 (Castric and Bernatchez, 2003). This genetic differentiation probably implies a significant adaptive genetic divergence between anadromous and resident populations. One way to assess whether specific physiological adaptations related to migration occurred in anadromous brook charr while minimizing the environmental variance was to rear both forms under the same experimental conditions.

The aim of our study was to test for differences between anadromous and resident brook charr in terms of cathepsin L activity and gene expression, as well as muscle composition. Secondly, we aimed to investigate if those traits had a significant genetic basis, through heritability estimates, variance of breeding values and parental effects. Finally, we assessed whether physiological responses of anadromous and resident fish were stable in controlled conditions.

MATERIALS AND METHODS

Biological material and sampling

The reader is referred to chapter 1 for description of breeding design, rearing conditions and samplings. However, only two sampling periods, in June (before seawater transfer) and in August, were used in the present chapter.

RNA extraction

Charr liver or muscle pieces of 0.025 g were homogenized and mixed in 1.0 ml of trizol reagent (Invitrogen) with a tissuelyser. Two hundred μ l of chloroform (Invitrogen) was added to the sample, which was then centrifuged at 4°C and 12,000 rpm for 15 min. The aqueous phase was transferred to another eppendorf tube and 1 ml of isopropanol (Sigma-Aldrich) was added. Samples were stored overnight at -80°C. Frozen samples were centrifuged at 4°C and 13,000 rpm for 60 min. The supernatant was removed with a vacuum pump and the pellet washed with 1.0 ml of 70% ethyl alcohol (Sigma-Aldrich). The ethyl alcohol was removed and the pellet dried for 15 min at room temperature. The dried pellet was resuspended in 40.0 μ l of nuclease-free water (Ambion) and then spiked with 1.0 μ l of superase in (Ambion).

RNA purification and DNase I treatment

All RNA samples were purified with micro-columns (microcons) (Fisher Scientific). The microcons were centrifuged with 100.0 μl of nuclease-free water at 14,000xG for 13 min. Then, 35.0 μl of each RNA sample were transferred to the microcon, eluted with 170.0 μl of nuclease-free water, and centrifuged at 14,000xG for 20 min. The elution step was repeated; the filter was then transferred to another column along with 30.0 μl of nuclease-free water and centrifuged at 4,000 g for 4 min. All RNA samples were incubated for 35 min at room temperature with 2.0 μl of deoxyribonuclease I (Invitrogen) and 3.0 μl of 10X deoxyribonuclease I buffer (200 mM Tris-HCl [pH 8.4], 20 mM MgCl_2 , and 500 mM KCl) to prevent any potential contamination by genomic DNA. Samples were incubated with 3.0 μl of 25 mM EDTA for 10 min at 65°C to stop the deoxyribonuclease reaction.

Reverse transcription and real-time PCR

The RNA samples were diluted to a concentration of 0.350 $\mu\text{g RNA } \mu\text{l}^{-1}$ with nuclease-free water (Ambion) in a volume of 20.0 μl . Twenty μl of master mix (4.0 μl of 10X reverse transcription buffer, 1.6 μl of 25X dNTPs, 4 μl of 10X random primers, 2 μl of MultiScribe™ reverse transcriptase 50 U μl^{-1} , and 8.4 μl of nuclease-free H_2O) from a cDNA reverse transcription kit (Applied Biosystems) were added to each sample, for a final reaction volume of 40.0 μl . All reverse transcription reactions were carried out on a GeneAmp PCR System 9700 thermal cycler (Applied Biosystems) with the following

thermal profiles: 10 min at 25°C, 120 min at 37°C, and 5 sec at 85°C. All samples were kept at -20°C until the real-time PCR experiments. TaqMan™ MGB probes and primers for the CTPSL gene were designed and manufactured by Applied Biosystems. All reactions were carried out on an ABI Prism 7500 Sequence Detection System (Applied Biosystems). For the quantification of brook charr CTPSL mRNA, primers (5' - GTTCAGGAAGACTGGCAAGC- 3'/5' -CCATGGTCCAACCTCCTCACT- 3', sense and anti-sense, respectively) were designed with primer3 (Applied Biosystems). Gene expression profiles were measured with the relative quantification method of the $2^{-\Delta\Delta C_T}$, which allowed to compare expression of the target gene and expression of the endogenous control, as described in Côté *et al.* (2007), with minor modifications. Eukaryotic 18S rRNA (Applied Biosystems) was used as the endogenous control (reference gene) for relative quantification by real-time PCR. For all primer/probe sets, amplification efficiencies were calculated following the manufacturer's instructions, and all the values were sufficient to allow direct comparison of amplification plots (see Sequence Detection Systems Quantitative Assay Design and Optimization, Applied Biosystems). Each reaction (25.0 µl) was run in triplicate on a 96-well plate and contained 5.0 µl of cDNA (diluted 1:5 for the target gene and 1:5000 for the 18S rRNA gene), 12.5 µl of TaqMan Universal PCR master mix (Applied Biosystems), and 0.9 µM F/R primers. The thermocycling profile used was the default from the SDS 3.1.3 software (50°C for 2 min, 95°C for 10 min, then 40 cycles at 95°C for 15 sec and at 60°C for 1 min).

Cathepsin L enzymatic assays

Epaxial muscle and liver samples were dissected, homogenized in 0.1 M phosphate buffer, and stored at -80°C until analysis. Cathepsin L activity in these samples was measured using a cathepsin L activity kit (EMD Biosciences) as described in the manufacturer's protocol. All reactions were run in duplicate on 96-well plates. The fluorescence was measured at wavelengths of 370 nm for excitation and 460 nm for emission. Enzymatic assays were performed on a SpectroMax Gemini (Molecular Devices). Total and specific cathepsin L activities were measured. Specific cathepsin L enzymatic activity was expressed as $\mu\text{Mol AMC mg hepatic (or muscle) total protein}^{-1}$. Total cathepsin L enzymatic activity was expressed as $\mu\text{Mol AMC g}^{-1}$ liver (or epaxial muscle). Contrary to all the other biochemical analyses, muscle cathepsin L enzymatic activity was not measured on all fish, but only on 10 individuals per cross-type for each sampling period.

Energetic reserve assays

Total protein content was assayed using the Bradford method (Bradford, 1976) with minor modifications. Biorad reagent (Biorad) was used, and the assays were performed as specified in the manufacturer's protocol. Protein concentrations were read at a wavelength of 595 nm. Muscle glycogen was measured according to the Carr & Neff method (Carr and Neff, 1984), with glucose measured using the o-toluidine reagent (Sigma-Aldrich) and

glucose standards from the Quantichrom glucose assay kit (BioAssays). Glucose concentrations were read at a wavelength of 630 nm. The Frings method (Frings *et al.*, 1972) was used to assay muscle lipid content.

Data analysis

Kolmogorov-Smirnov and Brown-Forsythe tests were applied to assess data normality and homogeneity of variance, respectively. The effects of cross-type (CT), family (nested in the cross-type factor), and sampling period (time, T) on cathepsin L expression and activity as well as muscle water content were analyzed by nested two-way analysis of variance (ANOVA). As the family factor was nested in cross-type, only CT × T interactions were considered in the model. Similar analyses were performed on muscle reserves (glycogen, lipids and proteins), but body mass was added as covariate. When appropriate, Tukey HSD tests were used for mean comparisons. Differences at $p < 0.05$ were considered to be significant. Spearman correlation calculations were made to determine if there was a significant correlation between cathepsin L gene expression and enzyme activity, and between muscle protein content and body mass. All statistical analyses were performed with Statistica version 6.0 for Windows (StatSoft, Tulsa, OK, USA). Heritability estimates for all traits, except cathepsin L muscle enzyme activity, were obtained using the ASREML software ver. 2.0 (VSN International Ltd., UK) using the model $Y_i = \mu + A_i + e$, where Y is the response variable, μ is the mean, A is the random additive effect, and e is the vector associated with random error. Heritability values were

quantified on pure cross-types only and separately for each pure cross-type. Heritability calculations were made only on physiological variables measured in August. ASREML was also used to determine estimated breeding values (EBV, additive genetic merit; Mrode, 2005) and parental effects (maternals and paternals). These effects were estimated by the ratio of parental (dam and sire) additive genetic variance on phenotypic variance. Parental effects were determined using the model $Y_i = \mu + A_i + M_i + P_i + e$, where Y is the response variable, μ is the mean, A is the random additive effect, M is the maternal effect, P is the paternal effect and e is the vector associated with random error. Parental effects were measured on all sampled individuals in August (anadromous, residents and reciprocal hybrids).

RESULTS

Cathepsin L

In June and August, the relative expression of cathepsin L gene did not differ significantly between anadromous and resident fish and between the two periods of sampling (Fig. 3.1; Table 3.1). Nevertheless, Fig. 3.1 suggests an overall decrease in relative expression for all fish groups. Hepatic cathepsin L activity, even though similar between pure cross-types in June, was significantly higher in anadromous than in resident fish in August (Fig. 3.2 A, B; Table 3.1). In August, the heritability estimates for cathepsin L gene expression and hepatic enzyme activities were high to moderate in anadromous fish but very low in residents (Table 3.2). EBV variance was low in both pure cross-types relative to gene expression but very high relative to enzyme activity, and at least 20 fold higher in anadromous than in resident fish (Table 3.2). Muscle enzyme activity did not differ either between both pure cross-types or between sampling times (Table 3.1) and averaged 0.26 ± 0.11 ($\mu\text{M AMC mg total hepatic protein}^{-1}$) and 9.49 ± 6.34 ($\mu\text{M AMC g liver}^{-1}$) for specific and total activity, respectively.

Fig. 3.1. Hepatic relative expression of cathepsin L gene in anadromous, resident, and reciprocal hybrids in June and August. AA: anadromous brook charr; RR: freshwater resident brook charr; AR: anadromous/resident hybrids; RA: resident/anadromous hybrids. Results are expressed as mean \pm standard deviation. Different letters indicate significant differences among cross-types over time ($p < 0.05$).

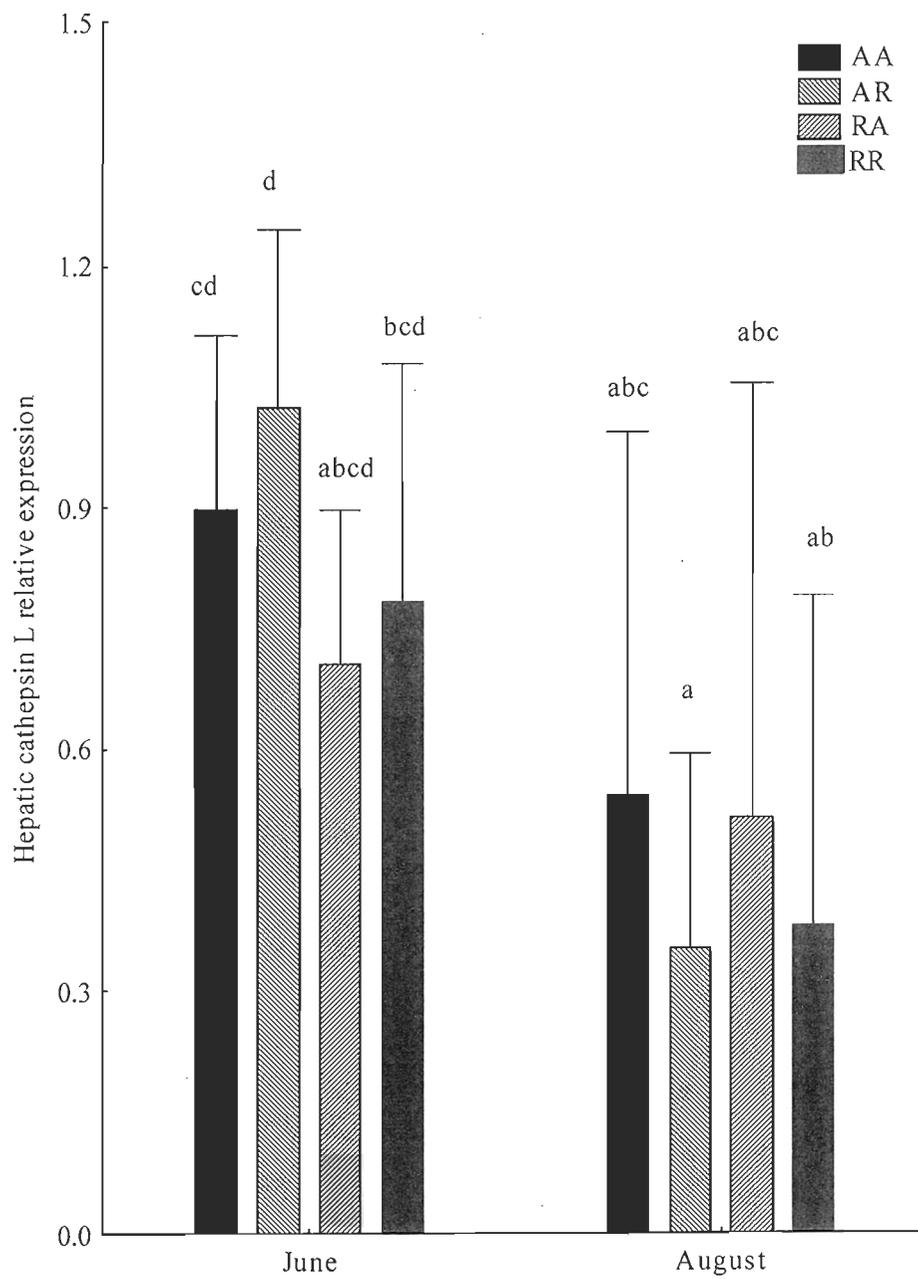


Table 3.1. ANOVA statistics for cathepsin L expression and enzymatic activity, muscle water percentage, and ANCOVA statistics for muscle energetic reserve content of anadromous, resident and reciprocal hybrid brook charr in June and August. CT: cross-type. T: sampling period.

Hepatic cathepsin L gene expression	CT × T: df = 3 F = 2.78 p < 0.05
Specific hepatic cathepsin L activity	CT × T: df = 3 F = 5.33 p < 0.01
Total hepatic cathepsin L activity	CT × T: df = 3 F = 5.21 p < 0.01
Specific muscle cathepsin L activity	CT × T: df = 3 F = 0.38 p > 0.05 CT: df = 3 F = 0.28 p > 0.05 T: df = 1 F = 0.58 p > 0.05
Total muscle cathepsin L activity	CT × T: df = 3 F = 0.67 p > 0.05 CT: df = 3 F = 0.57 p > 0.05 T: df = 1 F = 2.83 p > 0.05
Muscle water percentage	CT × T: df = 3 F = 4.00 p < 0.01
Muscle protein content	CT × T: df = 3 F = 0.98 p > 0.05 CT: df = 3 F = 6.20 p < 0.001 T: df = 1 F = 279.28 p < 0.001
Muscle glycogen content	CT × T: df = 3 F = 0.40 p > 0.05 CT: df = 3 F = 0.75 p > 0.05 T: df = 1 F = 25.76 p < 0.001
Muscle lipid content	CT × T: df = 3 F = 0.52 p > 0.05 CT: df = 3 F = 1.42 p > 0.05 T: df = 1 F = 16.92 p < 0.001

The relative expression of cathepsin L gene significantly decreased from June to August in the AR hybrid, but not in the reciprocal hybrid (Fig. 3.1). No concomitant significant decrease in hepatic enzyme activity was observed in the AR cross-type, even though such a trend was present (Fig. 3.2). Enzymatic activities, both total and specific, differed between both hybrid cross-types and were similar to their corresponding paternal line. Indeed, while rather low, sire effects could be observed, especially for specific enzyme activity (Table 3.3). Overall, it should be noted that a highly significant albeit modest correlation was found between gene expression and total enzymatic activity (Fig. 3.3).

Fig. 3.2 A. Specific hepatic cathepsin L enzyme activity in anadromous, resident, and reciprocal hybrid brook charr in June and August expressed in $\mu\text{M AMC (mg total hepatic protein)}^{-1}$. **B.** Total hepatic cathepsin L activity in anadromous, resident, and reciprocal hybrid brook charr, from June to August, expressed in $\mu\text{M AMC (g liver)}^{-1}$. AA: anadromous brook charr; AR: anadromous/resident hybrids; RA: resident/anadromous hybrids; RR: resident fish. Results are expressed as mean \pm standard deviation. Different letters indicate significant differences among cross-types over time ($p < 0.05$).

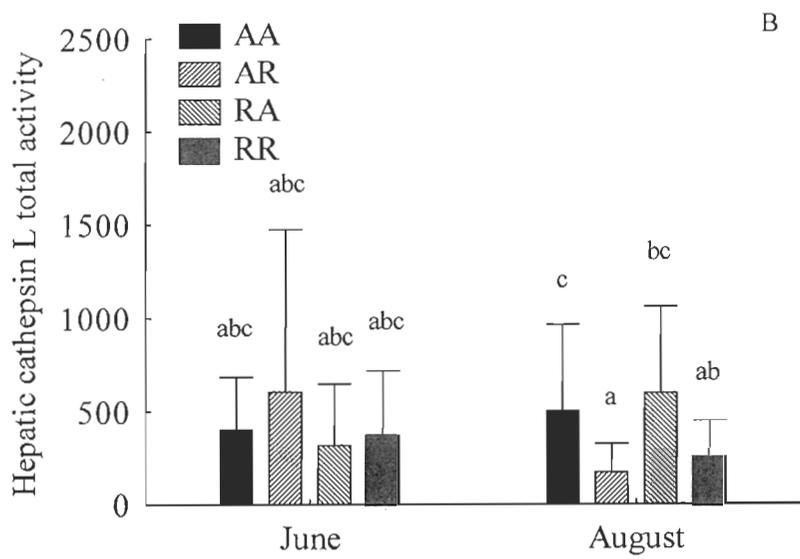
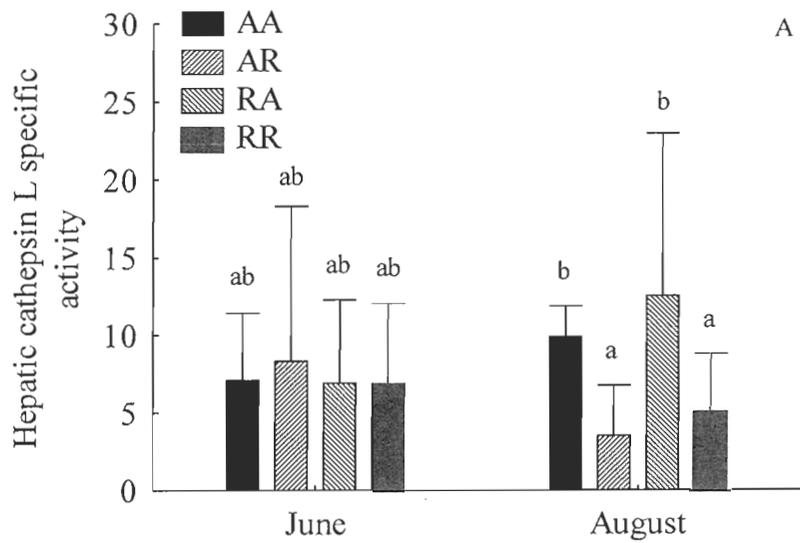


Table 3.2. Heritability estimates ($h^2 \pm \text{sd}$) and variance of breeding values ($\sigma^2 \text{EBV}$) for physiological traits measured in anadromous (AA) and resident (RR) 1+ brook charr in August.

Trait	AA	RR	AA	RR
	h^2	h^2	$\sigma^2 \text{EBV}$	$\sigma^2 \text{EBV}$
Muscle water content	0.00 \pm 0.00	0.42 \pm 0.29	0.000	0.273
Hepatic cathepsin L expression	0.72 \pm 0.39	0.06 \pm 0.16	0.102	0.002
Specific hepatic cathepsin L activity	0.35 \pm 0.31	0.08 \pm 0.20	9.982	0.212
Total hepatic cathepsin L activity	0.44 \pm 0.34	0.04 \pm 0.19	42211.38	213.75
Muscle lipids	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.000	0.000
Muscle proteins	0.10 \pm 0.16	0.08 \pm 0.12	1.687	1.185
Muscle glycogen	0.25 \pm 0.23	0.44 \pm 0.29	0.108	0.269

Muscle composition

In anadromous fish, muscle water content was significantly lower in August than in June, while no change was observed in resident fish (Fig. 3.4; Table 3.1). Muscle protein content was significantly lower in August than in June, irrespective of cross-type ($40.83 \pm 6.88 \text{ mg g}^{-1}$, $N = 171$ and $28.86 \pm 6.73 \text{ mg g}^{-1}$, $N = 185$ in June and August, respectively; Table 3.1). No significant difference between anadromous and resident fish was present.

Similarly, muscle glycogen and lipids both decreased from June to August in all cross-types (Tables 3.1 and 3.4), and those did not differ one with the other (Tables 3.1 and 3.4).

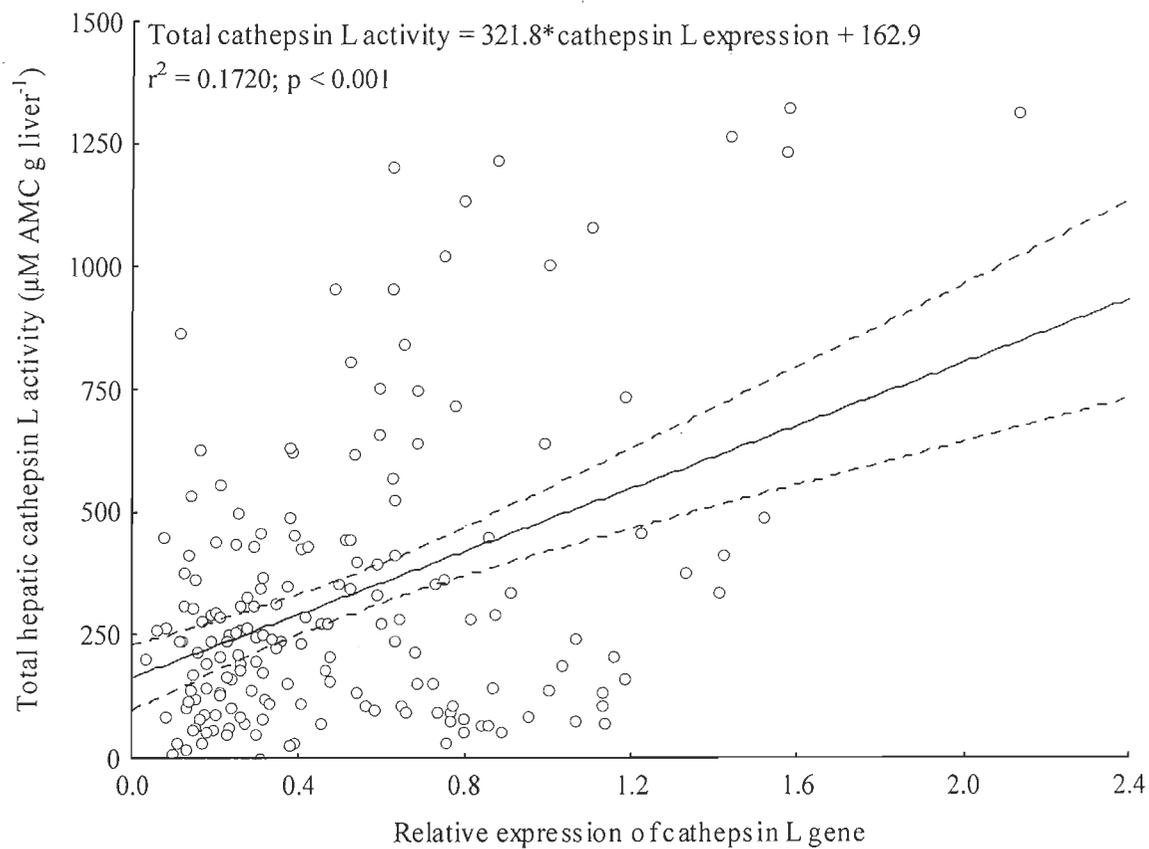


Fig. 3.3. Correlation between relative expression of cathepsin L and total hepatic cathepsin L activity.

Table 3.3. Ratios of parental (dam and sire) variance on phenotypic variance in brook charr in August.

Trait	Dam	Sire
Hepatic cathepsin L expression	0.00 ± 0.00	0.07 ± 0.18
Specific hepatic cathepsin L activity	0.02 ± 0.04	0.18 ± 0.25
Total hepatic cathepsin L activity	0.00 ± 0.00	0.09 ± 0.16
Muscle water content	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Muscle lipids	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Muscle proteins	0.11 ± 0.15	0.00 ± 0.00
Muscle glycogen	0.01 ± 0.04	0.00 ± 0.00

Heritability of these traits varied between forms and among traits. Moderate heritability was present in resident fish regarding muscle water content and glycogen content (Table 3.2). Heritability of muscle glycogen content was also moderate in anadromous fish, but heritability for other traits was null or very low. Variance of estimated breeding values was null or very low for all traits and in both forms (Table 3.2). Ratios of parental (dam and sire) variance indicate only a slight dam effect on muscle protein content, but no other parental effect could be detected (Table 3.3).

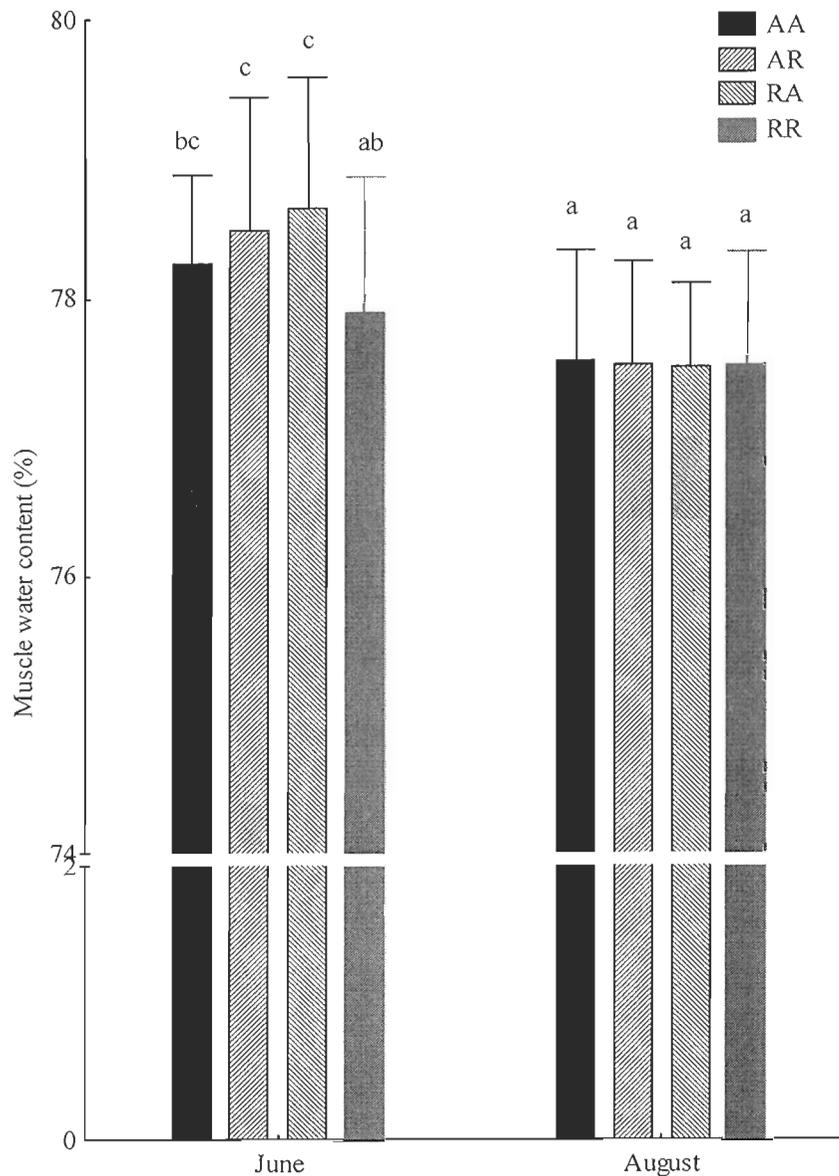


Fig. 3.4. Muscle water content in anadromous, resident, and reciprocal hybrid brook charr in June and August. AA: anadromous brook charr; AR: anadromous/resident hybrids; RA: resident/anadromous hybrids; RR: resident fish. Results are expressed as mean \pm standard deviation. Different letters indicate significant differences among cross-types over time ($p < 0.05$).

In both RA and AR hybrids, muscle water content significantly decreased from June to August in a similar manner (Fig. 3.4; Table 3.1). In June, both hybrids had higher muscle water content than resident fish (Fig. 3.4). In August, there was no difference between cross-types for muscle water content (Fig. 3.4). Muscle protein content was significantly higher in the RA hybrid compared to anadromous and AR cross-types (Table 3.4).

Mass covariant effect was significant ($p < 0.001$) for proteins, lipids and glycogen measured in muscle tissue. However, no significant correlation was found between muscle protein content and body mass ($y = 0.01x + 33.73$; $r^2 = 0.002$; $p > 0.05$). Similarly, no correlation was found between muscle glycogen ($y = -0.002x + 1.065$; $r^2 = 0.002$; $p > 0.05$) or muscle lipids and body mass ($y = 0.002x + 24.639$; $r^2 = 0.000$; $p > 0.05$).

Table 3.4. Glycogen and lipid content of epaxial muscle (mg g^{-1}) in 1+ brook charr in June and August. * Indicate global significant decrease between June and August. Different letters indicate significant differences among cross-types.

Glycogen	AA	AR	RA	RR
June	1.29 ± 1.35	1.39 ± 1.30	1.18 ± 1.04	1.18 ± 1.26
August*	0.80 ± 0.81	0.73 ± 0.91	0.48 ± 0.46	0.61 ± 0.69
Lipids				
June	24.83 ± 16.94	32.69 ± 14.19	28.92 ± 16.12	25.82 ± 14.59
August*	20.37 ± 16.92	21.18 ± 15.58	21.86 ± 15.44	20.91 ± 15.00
Proteins				
	a	a	b	ab
June	38.97 ± 8.19	40.03 ± 7.38	43.60 ± 4.74	40.79 ± 6.21
August*	26.89 ± 4.86	27.66 ± 6.86	31.00 ± 6.57	30.47 ± 7.63

DISCUSSION

The aim of our study was to assess whether anadromous and resident brook charr differed in terms of cathepsin L activity and gene expression, as well as muscle composition. We also aimed to investigate if the genetic basis of those traits was significant, through heritability estimates, variance of breeding values and parental effects. Finally, we wanted to determine if physiological responses of anadromous and resident brook charr were stable in controlled conditions.

Cathepsin L activity and gene expression in relation to life history

We found that hepatic cathepsin L activity differed between both pure cross-types. The higher activity in anadromous fish at a period of the year corresponding to spawning migration (Curry *et al.*, 2006) could reflect the presence of specific adaptations to respond to seasonal increase in energy requirements. Even though their spawning migration is probably not as energy consuming as reported in other salmonid species, anadromous brook charr from the Laval River still have hurdles to overcome before reaching their spawning grounds. The shortening photoperiod of late summer induces sexual maturation that must be completed in freshwater (Curry *et al.*, 2006). Consequently, anadromous charr must move from rich feeding areas into suboptimal thermal and feeding habitats of the river, where feeding rate is reduced (Naiman *et al.*, 1987; Curry *et al.*, 2006). They also have to

swim through unfavourable, warm waters to reach these poorer feeding habitats before spawning (Curry *et al.*, 2006). On the other hand, resident brook charr of the Laval River travel on much shorter distances than their anadromous counterparts to reach their spawning grounds, and do not experience significant changes in environmental conditions over a short amount of time compared to anadromous brook charr (Curry *et al.*, 2006).

In other anadromous salmonids, cathepsins play a prominent role in the breakdown of protein reserves to fuel metabolism and sustain gonad development, as well as vitellogenesis (Mommsen *et al.*, 1980; Mommsen, 2004; Salem *et al.*, 2006). In these species, not only muscle but also hepatic proteins can be used as energy substrates to fuel the formation of ATP, either directly via the Krebs cycle or through glycolysis via hepatic gluconeogenesis (French *et al.*, 1981; French *et al.*, 1983). When compared to studies done on other salmonids (chum salmon (*Oncorhynchus keta*): Yamashita and Konagaya, 1990; Yamashita and Konagaya, 1992; sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*): Miller *et al.*, 2009), cathepsin L activity in anadromous charr remained low. Indeed, cathepsin L activity can reach levels as high as 25 units g^{-1} in the white muscle of chum salmon during spawning migration (Yamashita and Konagaya, 1992). It should be noted that such differences are not surprising when comparing semelparous (one time spawning) and iteroparous (repeat spawning) salmonids. The formers can undertake much longer spawning migrations (thousands vs. dozens of kilometers; Foerster, 1968; Mommsen, 2004) than brook charr (Power, 1980; Curry *et al.*, 2006), which likely implies a higher

metabolic load. Indeed, in chum salmon, muscle protein concentration can decrease by as much as 40 % during spawning migration (Yamashita and Konagaya, 1990), while it can decrease by 60 % in sockeye salmon (Kiessling *et al.*, 2004). Decreases of the same order of magnitude (50 %) in hepatic soluble protein content are also known to occur in sockeye salmon by the time the fish reach their spawning grounds (Mommensen *et al.*, 1980). Moreover, while semelparous salmon species must rely entirely on their endogenous body reserves, since they stop feeding when they undertake their spawning migration (Burgner, 1991), iteroparous (repeat spawning) salmonids may continue to feed during their spawning migration (Salem *et al.*, 2006). Semelparous salmonids also invest a larger percentage of their body reserves into gamete production than repeat spawning salmonids (Salem *et al.*, 2006). Indeed, brook charr and other iteroparous salmonids that inhabit northern regions must conserve energy reserves to fulfill their other physiological needs and to survive winter (Cunjak and Power, 1986).

Despite the absence of significant difference between cross-types, relative expression of the cathepsin L gene varied in a way that was similar to total cathepsin L enzymatic activity, as indicated by the significant positive correlation between these two variables. This contrasts with observations made by Carnevali *et al.* (2008), who documented the activity and expression of the genes of cathepsins B, D and L during the sexual maturation of gilthead seabream (*Sparus aurata*). These authors found no significant correlation between cathepsin L activity and level of mRNA during early vitellogenesis

(Carnevali *et al.*, 2008). The absence of significant difference between both pure cross-types could be related to the high variance within cross-types. Large inter-individual variance of expression have been commonly reported in other fishes (Oleksiak *et al.*, 2002; Oleksiak *et al.*, 2005; Crawford and Oleksiak, 2007; Nikinmaa and Waser, 2007). This can lead to several expression profiles within a group (Oleksiak *et al.*, 2005), potentially different enough to overcome differences between groups.

We also observed striking differences in heritability estimates as well as high additive genetic variance in cathepsin L expression between anadromous and resident brook charr, with a much lower value found for the latter. It has been suggested that relatively uniform environmental conditions—as in our study—increase heritability by reducing the environmental component of the variance (Falconer and MacKay, 1996). However, since difference in phenotypic variance for a given trait between laboratory and field conditions usually do not exceed 20 % (Roff, 1997), levels of heritability typically measured under laboratory conditions are comparable to those that occur in the natural environment (Weigensberg and Roff, 1996). In the ecological context of the Laval River, the higher heritability values in anadromous brook charr for hepatic cathepsin L expression and activity was not expected a priori. Instead we would have predicted that stronger selective pressure by a more costly migration would have reduced additive genetic variance and thus heritability in anadromous relative to resident brook charr (Falconer and Mackay, 1996). However, an alternative hypothesis could be that higher additive genetic variance

and heritability in anadromous fish is maintained by balancing selection associated with the use of contrasting habitats (freshwater and coastal marine waters) by anadromous fish whereas the use of a single and more homogeneous habitat by resident fish would result in more pronounced stabilizing selection causing reduction in overall genetic variance. In such a case, selective pressures would probably likely maintain cathepsin L expression and activity at a relatively low level at all times. Thus, it could be that resident fish maintained the same level of cathepsin L activity in August than in June because they can normally meet their energetic requirements without increasing proteolysis of their hepatic reserves in contrast to anadromous fish. This however, remains to be experimentally tested more rigorously.

Roles of cathepsin L enzymatic activity in muscle composition

Contrary to what has been observed in semelparous salmonid species during their spawning migration (Yamashita and Konagaya, 1992), cathepsin L activity remained low in the white muscle of anadromous brook charr during this period of their life cycle. In absence of changes in muscle cathepsin L activity, we cannot directly associate the decrease of muscle protein content to this sole enzyme. Indeed, in rainbow trout, the decrease in muscle protein during spawning migration was correlated to an increase in muscle cathepsin L activity (Salem *et al.*, 2006). Muscle protein decrease in brook charr could have been achieved by other proteolytic enzymes, such as cathepsins B and D or calpains, which play a pivotal role in muscular protein degradation in several salmonid

species during their upstream migration (Yamashita and Konagaya, 1992; Mommsen, 2004). The slight decrease in muscle water content that occurred between June and August in anadromous brook charr, but not in resident fish, was not expected since muscle protein content also decreased during the same period. It is well known that fish replace the proteins loss from cathepsin activity with water to maintain their mass and external shape (Mommsen, 2004). One hypothetical explanation could be that the decrease of muscle water content in anadromous charr reflects a slight osmoregulatory imbalance following their return in freshwater.

Conclusions

To summarize, the differential physiological responses of hepatic cathepsin L enzyme activities, as well as differences in additive genetic variance for these traits between anadromous and resident brook charr likely reflect the outcome of adaptive divergence driven by different selective pressures associated with energy requirements for both cross-types during the spawning migration period. The various physiological responses and heritability values in this study also presumably imply that anadromous and resident have different potential to respond to internal or external environmental cues, at least for some traits related to migration. Since physiological responses of cathepsin L in this study were mainly hepatic, future research on cathepsins in brook charr should focus on physiological functions of these proteolytic enzymes related to sexual maturation and vitellogenesis, from the onset of vitellogenesis to spawning time.

DISCUSSION GÉNÉRALE

Interactions fonctionnelles entre les réponses physiologiques chez les souches pures

Ce projet de recherche a permis de mettre en évidence des différences entre des ombles de fontaine anadromes et résidents de la rivière Laval pour plusieurs traits physiologiques liés à la croissance, la migration et la reproduction (Tableau 4.1). En juin, les concentrations hépatiques de protéines étaient plus élevées chez les mâles et femelles anadromes que chez les résidents, mais ces différences ont disparu plus tard en saison. À l'inverse, alors que la concentration de glycogène hépatique était similaire au début de l'été entre anadromes et résidents, la concentration de glycogène hépatique a augmenté beaucoup plus chez les femelles résidentes que chez les femelles anadromes durant l'été et l'automne. Même observation chez les mâles, mais seulement au cours de l'été. Étonnamment, ceci n'a résulté en aucune différence significative d'IHS chez les mâles matures, et en un IHS plus élevé chez les femelles matures anadromes que chez les résidentes. Par contre, l'IHS des immatures était plus élevé chez les résidents à l'automne. Les femelles anadromes avaient davantage de vitellogénine hépatique que les résidentes en novembre, ce qui était vraisemblablement lié à leurs valeurs d'IHS plus élevées. Quant à l'activité enzymatique hépatique de la cathepsine L, elle était similaire chez les deux souches en juin, mais plus élevée chez les anadromes que chez les résidents en août. L'IGS des mâles matures résidents s'est avéré supérieur à celui des anadromes en août, alors que l'inverse a été observé en novembre. Enfin, le facteur de condition (KF) des résidents était supérieur à celui des anadromes en juin, août et novembre, et ce pour les deux sexes. Les valeurs d'héritabilité du glycogène hépatique et de l'activité enzymatique hépatique de la cathepsine L étaient plus élevées chez les anadromes que chez les résidents, alors que les valeurs d'héritabilité de l'IHS et du KF étaient plus élevées chez les résidents que chez les anadromes. Plusieurs des traits physiologiques étudiés, c'est-à-dire l'expression d'IGF-I, la masse corporelle, le facteur de condition, l'IHS, l'activité enzymatique hépatique de la cathepsine L, l'expression du gène de la cathepsine L, la concentration de glycogène

Tableau 4.1. Résumé des différences entre les anadromes et résidents pour les traits phénotypiques liés à la croissance, l'osmorégulation et la maturation sexuelle et niveau d'héritabilité de ces traits.

Sexe	Stade	Trait	Juin	Août		h^2	
						AA	RR
F	Immatures	KF	AA < RR	AA < RR	AA < RR	faible	élevée
		IHS	=	=	AA < RR	modérée	élevée
		Glycogène hépatique	=	AA < RR	AA < RR	élevée	faible
		Protéines hépatiques	AA > RR	=	=	faible	faible
		Activité Specif. Cat L	=	AA > RR	-	modérée	faible
		Activité Totale Cat L	=	AA > RR	-	modérée	faible
F	Matures	KF	-	AA < RR	AA < RR	faible	élevée
		IHS	-	=	AA > RR	modérée	élevée
		Vitellogénine	-	=	AA > RR	-	-
		Glycogène hépatique	-	AA < RR	AA < RR	élevée	faible
		Activité Specif. Cat L	-	AA > RR	-	modérée	faible
		Activité Totale Cat L	-	AA > RR	-	modérée	faible
M	Immatures	KF	AA < RR	=	AA < RR	faible	élevée
		IHS	=	=	AA < RR	modérée	élevée
		Glycogène hépatique	=	AA < RR	=	élevée	faible
		Protéines hépatiques	AA > RR	=	=	faible	faible
		Activité Specif. Cat L	-	AA > RR	-	modérée	faible
		Activité Totale Cat L	-	AA > RR	-	modérée	faible
M	Matures	KF	-	=	AA < RR	faible	élevée
		IHS	-	=	AA < RR	modérée	élevée
		Glycogène hépatique	-	AA < RR	=	élevée	faible
		Activité Specif. Cat L	-	AA > RR	-	modérée	faible
		Activité Totale Cat L	-	AA > RR	-	modérée	faible

= : Valeurs similaires chez les AA et les RR

J : Juin

A : Août

N : Novembre

- : Aucune analyse pour ce trait

hépatique et la concentration de glycogène musculaire, présentaient une base génétique additive importante pour au moins une des deux souches pures, ainsi que l'indiquaient les valeurs élevées d'héritabilité associées à ces traits. En revanche, d'autres traits physiologiques, en l'occurrence les concentrations de lipides et de protéines hépatiques et les concentrations de lipides et de protéines musculaires, n'étaient que très peu héréditaires chez au moins une des souches pures, voire les deux. De plus, les valeurs de Q_{ST} de la masse corporelle, du glycogène, des lipides et des protéines hépatiques, ainsi que des indices physiologiques, à l'exception du KF, étaient supérieures à la valeur de F_{ST} calculée pour les ombles de la rivière Laval, ce qui suggère que la différenciation de ces traits a été en partie influencée par la sélection directionnelle opérant entre les populations résidente et anadrome. Quelles interactions fonctionnelles entre les traits étudiés permettent d'expliquer les réponses physiologiques parfois différentes mesurées chez les ombles anadromes et résidents, ainsi que chez les deux types d'hybrides réciproques? Fournir certains éléments de réponse à cette question constitue l'objet essentiel de la présente section.

Les rôles physiologiques d'IGF-I dans les processus d'adaptation à l'eau de mer et d'osmorégulation ont été discutés au chapitre 1. Il faut toutefois mentionner que ce peptide joue un rôle prépondérant dans d'autres fonctions physiologiques, telles que la croissance, la maintenance tissulaire et la régulation du métabolisme (Jones et Clemmons, 1995; Mohan *et al.*, 2000). Ainsi, les variations d'expression d'IGF-I observées durant l'été pourraient être liées à la décroissance des réserves hépatiques de glycogène et de protéines chez les ombles étudiés durant la même période, indépendamment du croisement et du sexe. En effet, comme il a été dit précédemment, IGF-I intervient directement ou indirectement, souvent en interaction avec la GH, non seulement pour faciliter la croissance et le développement de plusieurs tissus (Björnsson *et al.*, 2002; Shimizu *et al.*, 2003; Vong *et al.*, 2003), mais aussi pour moduler le métabolisme (Méndez *et al.*, 2001; Nordgarden *et al.*, 2005). Plusieurs études réalisées chez d'autres espèces de salmonidés ont montré qu'une période de jeûne prolongée entraîne une diminution du nombre de récepteurs de la

GH et, par conséquent, une résistance accrue du foie à la GH et une diminution de la synthèse hépatique d'IGF-I (Beckman *et al.*, 1998; Duan, 1998; Baños *et al.*, 1999; Aas-Hansen *et al.*, 2005; Norbeck *et al.*, 2007). Il se produit, en de telles circonstances, une mobilisation partielle des réserves de glycogène, l'utilisation des réserves de lipides et de protéines survenant plus tard (Sheridan et Mommsen, 1991). Une augmentation de l'expression d'IGF-I, comme dans la présente étude après le transfert en eau de mer, est donc susceptible d'être associée à la tendance inverse, à savoir une accumulation marquée de réserves énergétiques, en particulier de glycogène, dans le foie.

Les résultats de la présente étude n'ont toutefois pas permis de mettre en évidence une accumulation significative de réserves énergétiques dans le foie au moment de l'augmentation de l'expression d'IGF-I. D'autres auteurs (Mauras et Haymond, 2005) ont indiqué qu'IGF-I jouait un rôle plus important dans l'anabolisme que dans le catabolisme des réserves. La diminution globale de l'expression d'IGF-I survenue à la fin de l'été, soit après le retour des poissons en eau douce, a coïncidé avec celle des réserves hépatiques de protéines. Il convient toutefois de mentionner que cette période correspond à celle où les ombles, en particulier les femelles, intensifient leur utilisation des réserves afin de rencontrer les besoins énergétiques liés à la maturation sexuelle (Adams et Huntingford, 1997).

La décroissance de l'expression d'IGF-I durant l'été pourrait également être liée à la vitellogenèse. Ainsi, Riley *et al.* (2002; 2004) ont démontré que le 17β -estradiol et la dihydrotestostérone stimulent de façon différentielle la production hépatique de vitellogénine et d'IGF-I chez le tilapia (*Oreochromis Mossambicus*). Ainsi, ces auteurs ont observé que le 17β -estradiol stimulait la libération de vitellogénine par le foie tout en inhibant l'expression hépatique du gène d'IGF-I (Riley *et al.*, 2004). Le même type de tendance a pu être observé dans le cadre de la présente étude, puisque les concentrations de

vitellogénine dans le foie de toutes les femelles en maturation ont augmenté considérablement au moment où l'expression du gène d'IGF-I a diminué. Ces résultats, comme ceux de l'étude de Riley *et al.* (2004), suggèrent l'existence d'un mécanisme permettant de rediriger l'énergie allouée à la croissance vers la production et la maturation des ovocytes chez les femelles.

Les niveaux d'expression d'IGF-I hépatique mesurés dans le cadre de cette étude pourraient aussi être liés à l'activité enzymatique de la cathepsine L et à l'expression du gène correspondant dans le foie. En effet, il a été démontré que certaines cathepsines peuvent dégrader IGF-I et ses protéines de liaison (IGFBP) (Claussen *et al.*, 1997). La très vaste majorité des molécules d'IGF-I en circulation dans l'environnement extracellulaire sont liées à ces protéines de haute affinité (Duan, 1997; Duan et Xu, 2005). Ainsi, la dégradation des IGFBP par la cathepsine L au moment où l'expression d'IGF-I était globalement la plus élevée, soit après le transfert en eau de mer, aurait pu avoir pour effet d'augmenter la quantité d'IGF-I libre en circulation, et ainsi de stimuler davantage l'augmentation de la tolérance à la salinité chez les ombles. Les molécules d'IGF-I excédentaires auraient par la suite été dégradées par les cathepsines.

Comme il a été mentionné précédemment, les cathepsines en général, et la cathepsine L en particulier, sont des enzymes dont le rôle essentiel est la dégradation des protéines, notamment lors de la montaison et/ou du frai des salmonidés (Ando *et al.*, 1986; Nielsen et Nielsen, 2001; Mommsen, 2004; Salem *et al.*, 2006). Salem *et al.* (2006) ont observé une augmentation substantielle de la quantité d'ARNm de cathepsine L durant la période de frai de truites arc-en-ciel sexuellement matures, alors que la quantité d'ARNm de cathepsine L de truites stériles n'a pas varié durant la même période. L'activité enzymatique de la cathepsine L plus élevée chez les anadromes que chez les résidents en août pourrait refléter le fait que les poissons anadromes en migration durant la période de

montaison ont généralement des besoins énergétiques supérieurs à ceux des résidents (Kinnison *et al.*, 2003) et ce, même si les poissons étudiés n'ont entrepris aucune migration. Ceci suggère un contrôle génétique pour l'expression de ce trait physiologique, ce que corrobore l'observation d'une valeur d'héritabilité modérée de l'activité enzymatique de la cathepsine L chez les anadromes. Par ailleurs, Kwon *et al.* (2001) ont suggéré que la cathepsine L joue un rôle important dans la vitellogenèse, ainsi que dans l'accumulation et la mobilisation des protéines du vitellus durant l'ovogenèse (Kwon *et al.*, 2001; Carnevali *et al.*, 2006). De fait, dans la présente étude, les concentrations de vitellogénine dans le foie des femelles de tous les croisements ont augmenté considérablement au mois d'août, correspondant à la période la plus intense de vitellogenèse, et durant l'automne (avant la période de frai).

Réponses physiologiques des hybrides réciproques

Les hybrides réciproques se sont comportés différemment des deux souches pures pour plusieurs paramètres physiologiques, soit les concentrations hépatiques de glycogène et de protéines, l'IGS, l'IHS, le KF et le pourcentage d'eau du muscle épaxial, ainsi que pour l'expression du gène d'IGF-I. Notamment, quelques différences entre les deux types d'hybrides ont été mises en évidence, notamment pour l'IHS des mâles, les concentrations hépatiques de glycogène et de protéines et l'activité enzymatique de la cathepsine L, indiquant que la direction de croisement est importante pour la sélection de certains traits physiologiques, mais qu'elle n'est généralement pas un facteur déterminant. Ainsi, l'expression d'IGF-I est l'un des traits pour lesquels la différence entre les hybrides réciproques était manifeste. Le niveau moyen d'expression d'IGF-I beaucoup plus élevé chez les hybrides RA que chez les hybrides AR après le transfert des poissons en eau de mer, ainsi que la similitude des niveaux d'expression des deux hybrides avec ceux de leurs souches paternelles correspondantes, suggèrent fortement l'occurrence d'un effet paternel pour ce trait physiologique. Comme il a été mentionné précédemment, IGF-I exerce une multitude de fonctions physiologiques de façon directe ou indirecte, dont l'augmentation de

la tolérance à la salinité lors de la période d'adaptation à l'eau de mer (Baños *et al.*, 1999; Calduch-Giner *et al.*, 2001; Fukada *et al.*, 2004). Ainsi, le fait que l'expression d'IGF-I durant la période susmentionnée ait été plus élevée chez les hybrides RA que chez les ombles des autres croisements suggère que la tolérance à la salinité était plus faible pour ces hybrides que pour les ombles des souches pures. Le fait que l'activité Na^+/K^+ ATPase de ces hybrides ait été plus faible que celle des anadromes après transfert en eau de mer, ainsi que l'ont indiqué Bastien *et al.* (en prép.), semble conforter cette hypothèse. Toutefois, il ne semble pas que cette moindre adaptation apparente des hybrides RA à l'eau de mer ait eu des effets majeurs sur la physiologie générale de ces poissons. En effet, plutôt que de démontrer une performance inférieure à celles des souches parentales, ces hybrides, tout comme les hybrides AR d'ailleurs, ont présenté des réponses intermédiaires pour certains des traits morphologiques ou physiologiques étudiés, c'est-à-dire le KF en juin, ainsi que la vitellogénine et la concentration de glycogène hépatique en novembre.

De façon générale, les réponses physiologiques observées suggéraient une divergence évolutive entre les anadromes et les résidents, au moins pour les traits reliés à la croissance, la reproduction et à la migration. Ainsi, ces différences physiologiques observées lors du maintien des deux souches dans des conditions expérimentales similaires pourraient refléter des adaptations locales découlant de pressions sélectives différentes subies par les deux populations résidente et anadrome ayant mené à l'évolution de stratégies migratrice et de reproduction propres à chacune. La comparaison de réponses physiologiques des ombles anadromes et résidents liées à la reproduction, au métabolisme énergétique, à l'osmorégulation et à la migration, conjuguée à la mesure de l'expression des gènes correspondants à l'aide de biopuces à ADN, dans leur milieu naturel, permettrait sans doute une compréhension plus globale de la divergence évolutive de ces deux populations de la rivière Laval.

Conclusions générales

En conclusion, les ombles de fontaine anadromes et résidents de la rivière Laval ont présenté plusieurs différences significatives génétiquement déterminées, dont une maturation sexuelle plus précoce, des concentrations de vitellogénine plus élevées après le retour en eau douce, une utilisation plus précoce des protéines hépatiques et un facteur de condition globalement plus élevé chez les ombles résidents, en dépit du fait qu'ils aient été élevés dans les mêmes conditions expérimentales. Ces différences étaient souvent plus ou moins importantes en fonction du sexe, notamment en raison des besoins énergétiques pour la reproduction supérieurs chez les femelles. De fait, les principales différences observées étaient sur le plan énergétique. Les concentrations hépatiques de glycogène, source principale d'énergie chez les poissons d'eau douce, et de vitellogénine, précurseur des réserves énergétiques utilisées par les œufs, étaient généralement plus élevées chez les résidents que chez les anadromes. Les hybrides réciproques se sont comportés différemment des deux souches pures pour plusieurs paramètres physiologiques, ainsi que pour l'expression du gène d'IGF-I. Cependant, le fait de produire des hybrides ne semble pas avoir procuré d'avantage ou de désavantage systématique sur le plan de l'investissement reproducteur et de la migration, car les réponses physiologiques de ces derniers étaient souvent similaires à celles d'au moins une des souches pures. La présente étude a également permis de mettre en évidence le fait que plusieurs des traits physiologiques étudiés présentaient une base génétique significative. De façon générale, les traits étudiés n'étaient pas héréditaires au même degré chez les anadromes et les résidents. Quelques traits physiologiques étaient toutefois fortement ou faiblement héréditaires chez les deux souches pures. Des effets parentaux, notamment paternels, ont également été mis en évidence pour certains des traits étudiés. De plus, la variation quantitative du phénotype (Q_{ST}) de la plupart des traits pour lesquels ce paramètre génétique a été calculé, à l'exception du KF, était supérieure à la valeur de divergence génétique neutre (F_{ST}) déterminée pour les ombles de la rivière Laval, ce qui supporte l'hypothèse voulant que ces traits aient divergé sous l'effet de la sélection directionnelle. Ainsi, il est probable que ces traits aient joué un rôle significatif dans la divergence adaptative des populations anadrome

et résidente de la rivière Laval. Ces résultats obtenus chez des ombles d'âge 1+, de concert avec ceux de Perry *et al.* (2005) sur les valeurs de Q_{ST} de traits morphologiques avant la résorption du sac vitellin, semblent indiquer que la divergence génétique adaptative des ombles de fontaine anadromes et résidents de la rivière Laval puisse se manifester à différents stades de leur cycle vital, dépendamment de la nature des traits étudiés.

Perspectives

Puisque plusieurs des traits physiologiques étudiés semblent susceptibles de varier en fonction des conditions environnementales, il serait intéressant de comparer, dans le cadre d'études ultérieures, les réponses physiologiques d'ombles de fontaine anadromes et résidents maintenus en milieu contrôlé à différents stades de leur cycle vital et dans plusieurs tissus différents (branchies, foie, muscles blancs, muscles rouges, tissus adipeux, gonades, entre autres). Cela permettrait sans doute de mieux comprendre les processus impliqués dans l'allocation des ressources énergétiques, l'osmorégulation, la maturation sexuelle et, par extension, l'importance relative des principaux facteurs régissant l'adoption des stratégies reproductrices chez l'omble de fontaine. Les analyses des réponses physiologiques pourraient être combinées à des méthodes d'étude globale du transcriptome et d'estimation de paramètres génétiques quantitatifs (héritabilité, effets parentaux, Q_{ST} , etc.), afin de mieux comprendre les processus évolutifs impliqués dans la divergence adaptative des formes résidente et anadrome de l'omble de fontaine. Il serait également pertinent de comparer des systèmes de populations où les formes anadrome et résidente constituent des populations génétiquement distinctes, telle la Rivière Laval, avec des systèmes où, au contraire, ces formes représentent un polymorphisme au sein d'une même population. Une étude viserait ainsi à mieux comprendre le rôle relatif des facteurs écologiques et évolutifs favorisant le maintien de la plasticité phénotypique versus ceux promouvant la divergence adaptative. Enfin, l'ensemble des informations biologiques recueillies dans de tels projets de nature fondamentale seraient susceptibles de fournir des données utiles, non seulement pour l'amélioration des souches existantes d'ombles de

fontaine utilisées en aquaculture, mais aussi pour une gestion plus efficace des populations sauvages de cette espèce.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AAS-HANSEN, Ø, E.H. JØRGENSEN et M.M. VIJAYAN. 2005. « Fasting modulates metabolic responses to cortisol, GH and IGF-I in Arctic charr hepatocytes ». *Journal of Fish Biology*, volume 67, numéro 6, pp. 1631-1645.
- ADAMS, C.E. et F.A. HUNTINGFORD. 1997. « Growth, maturation and reproductive investment in Arctic charr ». *Journal of Fish Biology*, volume 51, numéro 4, pp. 750-759.
- ANDO, S., F. YAMAZAKI, M. HATANO et K. ZAMA. 1986. « Deterioration of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) muscle during spawning migration – III. Changes in protein composition and protease activity of juvenile chum salmon upon treatment with sex steroids ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, volume 83, numéro 2, pp. 325-330.
- ARNDT, S. K. A. 2000. « Influence of sexual maturity on feeding, growth and energy stores of wild Atlantic salmon parr ». *Journal of Fish Biology*, volume 57, numéro 3, pp. 589-596.
- ARUKWE, A., S.W. KULLMAN, K. BERG, A. GOKSØYR et D.E. HINTON. 2002. « Molecular cloning of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggshell *zona radiata* protein complementary DNA: mRNA expression in 17 β -estradiol- and nonylphenol-treated fish ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, volume 132, numéro 2, pp. 315-326.
- ATTAIX, D., L. COMBARET et D. TAILLANDIER. 1999. Mechanisms and regulation in protein degradation: protein metabolism and nutrition. *Proceedings*, volume VIII, pp. 51-67.
- ATTEKE, C., A. VÉTILLARD, A. FOSTIER, D.-H. GARNIER, P. JEGO et T. BAILHACHE. 2003. « Effects of progesterone and estradiol on the reproductive

- axis in immature diploid and triploid rainbow trout ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, volume 134, numéro 4, pp. 693-705.
- BAÑOS, N., J.V. PLANAS, J. GUTIÉRREZ et I. NAVARRO. 1999. « Regulation of plasma insulin-like growth factor-I levels in brown trout (*Salmo trutta*) ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, volume 124, numéro 1, pp. 33-40.
- BASTIEN, A. 2010. « Évaluation d'un programme de sélection et identification des traits physiologiques liés à l'anadromie chez l'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) ». Thèse de doctorat en océanographie, Rimouski : Université du Québec à Rimouski, 150 p.
- BAUM, D., R. LAUGHTON, J.D. ARMSTRONG et N.B. METCALFE. 2004. « Altitudinal variation in the relationship between growth and maturation rate in salmon parr ». *Journal of Animal Ecology*, volume 73, numéro 2, pp. 253-260.
- BECKMAN, B.R., D.A. LARSEN, S. MORIYAMA, B. LEE-PAWLAK et W.W. DICKHOFF. 1998. « Insulin-like growth factor-I and environmental modulation of growth during smoltification of spring chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 109, numéro 3, pp. 325-335.
- BECKMAN, B.R., M. SHIMIZU, B.A. GADBERRY et K.A. COOPER. 2004. « Response of the somatotropic axis of juvenile coho salmon to alterations in plane of nutrition with an analysis of the relationships among growth rate and circulating IGF-I and 41 kDa IGFBP ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 135, numéro 3, pp. 334-344.
- BERG, O.K. et G. BREMSET. 1998. « Seasonal changes in the body composition of young riverine Atlantic salmon and brown trout ». *Journal of Fish Biology*, volume 52, numéro 6, pp. 1272-1288.

- BERG, O.K., E. THRONAES et G. BREMSET. 1998. « Energetics and survival of virgin and repeat spawning brown trout (*Salmo trutta*) ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 55, numéro 1, pp. 47-53.
- BERG, A.H., L. WESTERLUND et P.E. OLSSON. 2004. « Regulation of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) egg shell proteins and vitellogenin during reproduction and in response to 17 β -estradiol and cortisol ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 135, numéro 3, pp. 276-285.
- BERNATCHEZ, L. 2004. « Ecological theory of adaptive radiation: an empirical assessment from coregonine fishes (Salmoniformes) ». Dans: *Evolution Illuminated: Salmon and their relatives* (A.P. Hendry, S.C. Stearns, eds), pp. 176-207. Oxford (Royaume-Uni): Oxford University Press.
- BESNER, M. et D. PELLETIER. 1991. « Adaptation of the brook trout, *Salvelinus fontinalis*, to direct transfer to sea water in spring and summer ». *Aquaculture*, volume 97, numéros 2-3, pp. 217-230.
- BJÖRNSSON, B.T., V. JOHANSSON, S. BENEDET, I.E. EINARSDOTTIR, J. HILDAHL, T. AGUSTSSON et E. JÖNSSON. 2002. « Growth hormone endocrinology of salmonids: regulatory mechanisms and mode of action ». *Fish Physiology and Biochemistry*, volume 27, numéros 3-4, pp. 227-242.
- BJÖRNSSON, B.T., G.L. TARANGER, T. HANSEN, S.O. STEFANSSON et C. HAUX. 1994. « The interrelation between photoperiod, growth hormone, and sexual maturation of adult Atlantic salmon (*Salmo salar*) ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 93, numéro 1, pp. 70-81.
- BOUGAS, B., S. GRANIER, C. AUDET et L. BERNATCHEZ. 2010. « The transcriptional landscape of cross-specific hybrids and its possible link with growth in brook charr (*Salvelinus fontinalis* Mitchill) ». *Genetics*, volume 186, numéro 1, pp. 97-107.

- BOULA, D., V. CASTRIC, L. BERNATCHEZ et C. AUDET. 2002. « Physiological, endocrine, and genetic bases of anadromy in the brook charr, *Salvelinus fontinalis*, of the Laval River (Québec, Canada) ». *Environmental Biology of Fishes*, volume 64, numéros 1-3, pp. 229-242.
- BRADFORD, M.M. 1976. « A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding ». *Analytical Biochemistry*, volume 72, numéros 1-2, pp. 248-254.
- BRETT, J.R. 1995. « Energetics ». Dans: *Physiological ecology of Pacific salmon* (C. Groot, L. Margolis et W.C. Clarke, eds), pp. 3-68. Vancouver (Canada): University of British Columbia Press.
- BROOKS, S., C.R. TYLER, O. CARNEVALI, K. COWARD et J.P. SUMPTER. 1997. « Molecular characterisation of ovarian cathepsin D in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* ». *Gene*, volume 201, numéros 1-2, pp. 45-54.
- BUISINE, N., V. TRICHET et J. WOLFF. 2002. « Complex evolution of vitellogenin genes in salmonid fishes ». *Molecular Genetics and Genomics*, volume 268, numéro 4, pp. 535-542.
- BURGNER, R.L. 1991. « Life history of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) ». Dans : *Pacific salmon life histories* (C. Groot, L. Margolis, eds), pp. 3-117. Vancouver (Canada): University of British Columbia Press.
- CALDUCH-GINER, J.À., H. DUVAL, F. CHESNEL, G. BOEUF, J. PÉREZ-SÁNCHEZ et D. BOUJARD. 2001. « Fish growth hormone receptor: molecular characterization of two membrane-anchored forms ». *Endocrinology*, volume 142, numéro 7, pp. 3269-3273.
- CAMERON, C., R. MOCCIA, P.A. AZEVEDO et J.F. LEATHERLAND. 2007. « Effect of diet and ration on the relationship between plasma GH and IGF-1 concentrations

in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.) ». *Aquaculture Research*, volume 38, numéro 8, pp. 877-886.

CAMERON, C., R.D. MOCCIA et J.F. LEATHERLAND. 2005. « Growth hormone secretion from the Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) pituitary gland in vitro: effects of somatostatin-14, insulin-like growth factor-I, and nutritional status ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 141, numéro 1, pp. 93-100.

CARNEVALI, O., C. CIONNA, L. TOSTI, E. LUBZENS et F. MARADONNA. 2006. « Role of cathepsins in ovarian follicle growth and maturation ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 146, numéro 3, pp. 195-203.

CARNEVALI, O., C. CIONNA, L. TOSTI, J. CERDÀ et G. GIOACCHINI. 2008. « Changes in cathepsin gene expression and relative enzymatic activity during gilthead sea bream oogenesis ». *Molecular Reproduction and Development*, volume 75, numéro 1, pp. 97-104.

CARR, R.S. et J.M. NEFF. 1984. « Quantitative semi-automated enzymatic assay for tissue glycogen ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, volume 77, numéro 3, pp. 447-449.

CASTONGUAY, M., G.J. FITZGERALD et Y. CÔTÉ. 1982. « Life history and movements of anadromous brook charr, *Salvelinus fontinalis*, in the St-Jean River, Gaspé, Québec ». *Canadian Journal of Zoology*, volume 60, numéro 12, pp. 3084-3091.

CASTRIC, V. et L. BERNATCHEZ, 2003. « The rise and fall of isolation by distance in the anadromous brook charr (*Salvelinus fontinalis* Mitchill) ». *Genetics*, volume 163, numéro 3, pp. 983-996.

CHERNOFF, E. et R.A. CURRY. 2007. « First summer growth predetermined in anadromous and resident brook charr (*Salvelinus fontinalis* Mitchill) ». *Journal of Fish Biology*, volume 70, numéro 2, pp. 334-346.

- CLAIREAUX, G. et C. AUDET. 2000. « Seasonal changes in the hypo-osmoregulatory ability of brook charr: the role of environmental factors ». *Journal of Fish Biology*, volume 56, numéro 2, pp. 347-373.
- CLAUSSEN, M., B. KÜBLER, M. WENDLAND, K. NEIFER, B. SCHMIDT, J. ZAPF et T. BRAULKE. 1997. « Proteolysis of insulin-like growth factors (IGF) and IGF binding proteins by cathepsin D ». *Endocrinology*, volume 138, numéro 9, pp. 3797-3803.
- COLLINS, A.L et T.A ANDERSON. 1995. « The regulation of endogenous energy stores during starvation and refeeding in the somatic tissues of the golden perch ». *Journal of Fish Biology*, volume 47, numéro 6, pp. 1004-1015.
- CÔTÉ, G., G. PERRY, P. BLIER et L. BERNATCHEZ. 2007. « The influence of gene-environment interactions on GHR and IGF-I expression and their association with growth in brook charr, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill) ». *BMC Genetics*, volume 8, pp. 87-99.
- COURTEMANCHE, D.A., F.G. WHORISKEY JR., V. BUJOLD et R.A. CURRY. 2006. « Assessing anadromy of brook charr (*Salvelinus fontinalis*) using scale microchemistry ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 63, numéro 5, pp. 995-1006.
- CRAWFORD, D.L. et M.F. OLEKSIK. 2007. « The biological importance of measuring individual variation ». *The Journal of Experimental Biology*, volume 210, numéro 9, pp. 1613-1621.
- CREPPEL, A. 2011. « Évaluation des composantes génétique et environnementale sur différents traits de performance d'intérêt aquacole chez l'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) ». Thèse de doctorat en océanographie, Rimouski : Université du Québec à Rimouski, 192 p.

- CUNJAK, R.A. et G. POWER. 1986. « Seasonal changes in the physiology of brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill) in a sub-arctic river system ». *Journal of Fish Biology*, volume 29, numéro 3, pp. 279-288.
- CURRY, R.A., L. BERNATCHEZ, F. WHORISKEY Jr. et C. AUDET. 2010. « The origins and persistence of anadromy in brook charr ». *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, volume 20, numéro 4, pp. 557-570.
- CURRY, R.A., J. VAN DE SANDE et F.G. WHORISKEY Jr. 2006. « Temporal and spatial habitats of anadromous brook charr in the Laval River and its estuary ». *Environmental Biology of Fishes*, volume 76, numéros 2-4, pp. 361-370.
- D'AMELIO, S. et C. WILSON. 2008. « Genetic population structure among source populations for coaster brook trout in Nipigon Bay, Lake Superior ». *Transactions of the American Fisheries Society*, volume 137, numéro 4, pp. 1213-1228.
- DAVIS, L.K., N. HIRAMATSU, K. HIRAMATSU, B.J. READING, T. MATSUBARA, A. HARA, C.V. SULLIVAN, A.L. PIERCE, T. HIRANO et E.G. GRAU. 2007. « Induction of three vitellogenins by 17 β -estradiol with concurrent inhibition of the growth hormone-insulin-like growth factor 1 axis in a euryhaline teleost, the Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) ». *Biology of Reproduction*, volume 77, numéro 4, pp. 614-625.
- DAVIS, L.K., A.L. PIERCE, N. HIRAMATSU, C.V. SULLIVAN, T. HIRANO et E.G. GRAU. 2008. « Gender-specific expression of multiple estrogen receptors, growth hormone receptors, insulin-like growth factors and vitellogenins, and effects of 17 β -estradiol in the male Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 156, numéro 3, pp. 544-551.
- DELLEFORS, C. et U. FAREMO. 1988. « Early sexual maturation in males of wild sea trout, *Salmo trutta* L., inhibits smoltification ». *Journal of Fish Biology*, volume 33, numéro 5, pp. 741-749.

- D'ERCOLE, A.J., A.D. STILES. et L.E. UNDERWOOD. 1984. « Tissue concentrations of somatomedin C: further evidence for multiple sites of synthesis and paracrine or autocrine mechanisms of action ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, volume 81, numéro 3 I, pp. 935-939.
- DOYON, J.-F., C. HUDON, R. MORIN et F.G. WHORISKEY Jr. 1991. « Bénéfices à court terme des mouvements anadromes saisonniers pour une population d'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) du Nouveau Québec ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 48, numéro 11, pp. 2212-2222.
- DUAN, C. 1997. « The insulin-like growth factor system and its biological actions in fish ». *American Zoologist*, volume 37, numéro 6, pp. 491-503.
- DUAN, C. 1998. « Nutritional and developmental regulation of insulin-like growth factors in fish ». *Journal of Nutrition*, volume 128, supplément 2, pp. 306S-314S.
- DUAN, C. 2002. « Specifying the cellular responses to IGF signals: roles of IGF-binding proteins ». *Journal of Endocrinology*, volume 175, numéro 1, pp. 41-54.
- DUAN, C. et Q. XU. 2005. « Roles of insulin-like growth factor (IGF) binding proteins in regulating IGF actions ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 142, numéros 1-2, pp. 44-52.
- DUTIL, J.D. et G. POWER. 1980. « Coastal populations of brook trout, *Salvelinus fontinalis*, in Lac Guillaume-Delisle (Richmond Gulf) Québec ». *Canadian Journal of Zoology*, volume 58, numéro 10, pp. 1828-1835.
- EPPLER, E., A. CAELERS, N. SHVED, G. HWANG, A.M. RAHMAN, N. MACLEAN, J. ZAPF et M. REINECKE. 2007. « Insulin-like growth factor I (IGF-I) in a growth-enhanced transgenic (GH-overexpressing) bony fish, the tilapia (*Oreochromis niloticus*): indication for a higher impact of autocrine/paracrine than of endocrine IGF-I ». *Transgenic Research*, volume 16, numéro 4, pp. 479-489.

- FABRA, M. et J. CERDÀ. 2004. « Ovarian cysteine proteinases in the teleost *Fundulus heteroclitus*: Molecular cloning and gene expression during vitellogenesis and oocyte maturation ». *Molecular Reproduction and Development*, volume 67, numéro 3, pp. 282-294.
- FALCONER, D.S. et T.F.C. MACKAY. 1996. *Introduction to quantitative genetics*. 4^e édition. Harlow : Longmans Green. 480 p.
- FILBY, A.L., K.L. THORPE, G. MAACK et C.R. TYLER. 2007. « Gene expression profiles revealing the mechanisms of anti-androgen- and estrogen-induced feminization in fish ». *Aquatic Toxicology*, volume 81, numéro 2, pp. 219-231.
- FINSTAD, A.G., O.K. BERG, T. FORSETH, O. UGEDAL et T.F. NAESJE. 2010. « Adaptive winter survival strategies: defended energy levels in juvenile Atlantic salmon along a latitudinal gradient ». *Proceedings of the Royal Society B*, volume 277, numéro 1684, pp. 1113-1120.
- FLOURIOT, G., F. PAKDEL, B. DUCOURET, Y. LEDREAN et Y. VALOTAIRE. 1997. « Differential regulation of two genes implicated in fish reproduction: vitellogenin and estrogen receptor genes ». *Molecular Reproduction and Development*, volume 48, numéro 3, pp. 317-323.
- FOERSTER, R.E. 1968. « The sockeye salmon ». Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada, volume 162, pp. 1-422.
- FOOTE, C.J., G.S. BROWN et C.C. WOOD. 1997. « Spawning success of males using alternative mating tactics in sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka* ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 54, numéro 8, pp. 1785-1795.
- FRASER, D.J. et L. BERNATCHEZ. 2005. « Adaptive migratory divergence among sympatric brook charr populations ». *Evolution*, volume 59, numéro 3, pp. 611-624.

- FRENCH, C.J., T.P. MOMMSEN et P.W. HOCHACHKA. 1981. « Aminoacid utilization in isolated hepatocytes from rainbow trout ». *European Journal of Biochemistry*, volume 113, numéro 2, pp. 311-317.
- FRENCH, C.J., P.W. HOCHACHKA et T.P. MOMMSEN. 1983. « Metabolic organization of liver during spawning migrations of sockeye salmon ». *The American Journal of Physiology*, volume 245, numéro 6, pp. R827-R830.
- FRINGS, C.S., T.W. FENDLEY, R.T. DUNN et C.A. QUEEN. 1972. « Improved determination of total serum lipids by the sulfo-phospho-vanillin reaction ». *Clinical Chemistry*, volume 18, numéro 7, pp. 673-674.
- FUJITA, T., H. FUKADA, M. SHIMIZU, N. HIRAMATSU et A. HARA. 2004. « Quantification of serum levels of precursors to vitelline envelope proteins (choriogenins) and vitellogenin in estrogen treated masu salmon, *Oncorhynchus masou* ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 136, numéro 1, pp. 49-57.
- FUJITA, T., H. FUKADA, M. SHIMIZU, N. HIRAMATSU et A. HARA. 2005. « Annual changes in serum levels of two choriogenins and vitellogenin in masu salmon, *Oncorhynchus masou* ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, volume 141, numéro 2, pp. 211-217.
- FUKADA, H., Y. OZAKI, A.L. PIERCE, S. ADACHI, K. YAMAUCHI, A. HARA, P. SWANSON et W.W. DICKHOFF. 2004. « Salmon growth hormone receptor: molecular cloning, ligand specificity, and response to fasting ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 139, numéro 1, pp. 61-71.
- GIGER, T., L. EXCOFFIER, P.J.R. DAY, A. CHAMPIGNEULLE, M.M. HANSEN, R. POWELL et C.R. LARGIADÈR. 2006. « Life history shapes gene expression in salmonids ». *Current Biology*, volume 16, numéro 8, pp. R281-R282.

- GLEBE, B.D. et W.C. LEGGETT. 1981. « Latitudinal differences in energy allocation and use during the freshwater migrations of American shad (*Alosa sapidissima*) and their life history consequences. ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 38, numéro 7, pp. 806-820.
- GROSS, M.A. 1987. « Evolution of diadromy in fishes ». *American Fisheries Society Symposium*, volume 1, numéro 1, pp. 14-25.
- HEATH, D.D., R.H. DEVLIN, J.W. HEATH et G.K. IWATA. 1994. « Genetic, environmental and interaction effects on the incidence of jacking in *Oncorhynchus tshawytscha* (chinook salmon) ». *Heredity*, volume 72, numéro 2, pp. 146-154.
- HEATH, D.D., C.W. FOX et J.W. HEATH. 1999. « Maternal effects on offspring size: variation through early development of chinook salmon ». *Evolution*, volume 53, numéro 5, pp. 1605-1611.
- HEATH, D.D., L. RANKIN, C.A. BRYDEN, J.W. HEATH et J.M. SHRIMPSON. 2002. « Heritability and Y-chromosome influence in the jack male life history of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) ». *Heredity*, volume 89, numéro 4, pp. 311-317.
- HEATH, D.D., C.M. BETTLES, S. JAMIESON, I. STASIAK. et M.F. DOCKER. 2008. « Genetic differentiation among sympatric migratory and resident life history forms of rainbow trout in British Columbia ». *Transactions of the American Fisheries Society*, volume 137, numéro 4, pp. 1268-1278.
- HEERMANN, L., L.O. ERIKSSON, C. MAGNHAGEN et J. BORCHERDING. 2009. « Size-dependant energy storage and winter mortality of perch ». *Ecology of Freshwater Fish*, volume 18, numéro 4, pp. 560-571.
- HENDRY, A.P., T. BOHLIN, B. JONSSON et O.K. BERG. 2004. « To sea or not to sea? Anadromy versus non-anadromy in salmonids ». Dans: *Evolution Illuminated: Salmon and their relatives* (A.P. Hendry, S.C. Stearns, eds), pp. 92-125. Oxford (Royaume-Uni): Oxford University Press.

- HERBINGER, C.M. et G.W. FRIARS. 1991. « Correlation between condition factor and total lipid content in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. parr ». *Aquaculture and Fisheries Management*, volume 22, pp. 527-529.
- HERSHKO, A., A. CIECHANOVER et A. VARSHAVSKY. 2000. « The ubiquitin system ». *Nature Medicine*, volume 6, numéro 10, pp. 1073-1081.
- HOAR, W.S. 1988. « The physiology of smolting salmonids ». *Fish Physiology*, volume 11, partie B, pp. 275-343.
- HOMEL, K., P. BUDY, M.E. PFRENDER, T.A. WHITESEL et K. MOCK. 2008. « Evaluating genetic structure among resident and migratory forms of bull trout (*Salvelinus confluentus*) in Northeast Oregon ». *Ecology of Freshwater Fish*, volume 17, numéro 3, pp. 465-474.
- HURST, T.P. 2007. « Causes and consequences of winter mortality in fishes ». *Journal of Fish Biology*, volume 71, numéro 2, pp. 315-345.
- HUSS, M., P. BYSTROM, A. STRAND, L.O. ERIKSSON et L. PERSSON. 2008. « Influence of growth history on the accumulation of energy reserves and winter mortality in young fish ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 65, numéro 10, pp. 2149-2156.
- HUTCHINGS, J.A. 1996. « Adaptive phenotypic plasticity in brook trout, *Salvelinus fontinalis*, life histories ». *Écoscience*, volume 3, numéro 1, pp. 25-32.
- IWATA, M.. 1995. « Downstream migratory behavior of salmonids and its relationship with cortisol and thyroid hormones: a review ». *Aquaculture*, volume 135, numéros 1-3, pp. 131-139.

- JALABERT, B. 2005. « Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals ». *Reproduction Nutrition Development*, volume 45, numéro 3, pp. 261-279.
- JENSEN, L.F., M.M. HANSEN, C. PERTOLDI, G. HOLDENSGAARD, K.L.D. MENSBERG et V. LOESCHCKE. 2008. « Local adaptation in brown trout early life-history traits: implications for climate change adaptability ». *Proceedings of the Royal Society B*, volume 275, numéro 1653, pp. 2859-2868.
- JENTOFT, S., A.H. AASTVEIT et Ø. ANDERSEN. 2004. « Molecular cloning and expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*): lack of responsiveness to growth hormone treatment ». *Fish Physiology and Biochemistry*, volume 30, numéro 1, pp. 67-76.
- JONES, J.I. et D.R. CLEMMONS. 1995. « Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions ». *Endocrine Reviews*, volume 16, numéro 1, pp. 3-34.
- JONES, M.W., R.G. DANZMANN et D. CLAY. 1997. « Genetic relationships among populations of wild resident, and wild and hatchery anadromous brook charr ». *Journal of Fish Biology*, volume 51, numéro 1, pp. 29-40.
- JONSSON, B. et N. JONSSON. 1993. « Partial migration: niche shift versus sexual maturation in fishes ». *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, volume 3, numéro 4, pp. 348-365.
- JONSSON, N. et B. JONSSON. 1997. « Energy allocation in polymorphic brown trout ». *Functional Ecology*, volume 11, numéro 3, pp. 310-317.
- JONSSON, N. et B. JONSSON. 1998. « Body composition and energy allocation in life-history stages of brown trout ». *Journal of Fish Biology*, volume 53, numéro 6, pp. 1306-1316.

- KADRI, S., D.F. MITCHELL, N.B. METCALFE, F.A. HUNTINGFORD et J.E. THORPE. 1996. « Differential patterns of feeding and resource accumulation in maturing and immature Atlantic salmon, *Salmo salar* ». *Aquaculture*, volume 142, numéros 3-4, pp. 245-257.
- KAO, C.-M. et F.-L. Huang. 2008. « Cloning and expression of carp cathepsin Z: possible involvement in yolk metabolism ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, volume 149, numéro 4, pp. 541-551.
- KIESSLING, A., K. LINDAHL-KIESSLING et K.-H. KIESSLING. 2004. « Energy utilization and metabolism in spawning migrating early Stuart sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*): the migratory paradox ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 61, numéro 3, pp. 452-465.
- KINNISON, M.T., M.J. UNWIN et T.P. QUINN. 2003. « Migratory costs and contemporary evolution of reproductive isolation in male chinook salmon ». *Journal of Evolutionary Biology*, volume 16, numéro 6, pp. 1257-1269.
- KOPCHICK, J.J. et J.M. ANDRY. 2000. « Growth hormone (GH), GH receptor, and signal transduction ». *Molecular Genetics and Metabolism*, volume 71, numéros 1-2, pp. 293-314.
- KOSEKI, Y. et K. MAEKAWA. 2002. « Differential energy allocation of alternative male tactics in masu salmon (*Oncorhynchus masou*) ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 59, numéro 11, pp. 1717-1723.
- KWON, J.Y., F. PRAT, C. RANDALL et C.R. TYLER. 2001. « Molecular characterization of putative yolk processing enzymes and their expression during oogenesis and embryogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ». *Biology of Reproduction*, volume 65, numéro 6, pp. 1701-1709.
- LARSEN, D.A., M. SHIMIZU, K.A. COOPER, P. SWANSON et W.W. DICKHOFF. 2004. « Androgen effects on plasma GH, IGF-I, and 41 kDa IGFBP in coho salmon

(*Oncorhynchus kisutch*) ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 139, numéro 1, pp. 29-37.

LE GAC, F., O. BLAISE, A. FOSTIER, P.-Y. LE BAIL, M. LOIR, B. MOUROT et C. WEIL. 1993. « Growth hormone (GH) and reproduction: a review ». *Fish Physiology and Biochemistry*, volume 11, numéros 1-6, pp. 219-232.

LENORMAND, S., J.J. DODSON et A. MÉNARD. 2004. « Seasonal and ontogenetic patterns in the migration of anadromous brook charr (*Salvelinus fontinalis*) ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 61, numéro 1, pp. 54-67.

LIM, E.H., B.Y. TEO, T.J. LAM et J.L. DING. 2001. « Sequence analysis of a fish vitellogenin cDNA with a large phosphotyrosine domain ». *Gene*, volume 277, numéros 1-2, pp. 175-186.

MADSEN, S.S. et H.A. BERN. 1993. « In-vitro effects of insulin-like growth factor-I on gill Na⁺,K⁺-ATPase in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* ». *Journal of Endocrinology*, volume 138, numéro 1, pp. 23-30.

MAGNONI, L.J., D.A. PATTERSON, A.P. FARRELL et J.-M. WEBER. 2006. « Effects of long-distance migration on circulating lipids of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 63, numéro 8, pp. 1822-1829.

MAURAS, N. et M.W. HAYMOND. 2005. « Are the metabolic effects of GH and IGF-I separable? » *Growth Hormone IGF Research*, volume 15, numéro 1, pp. 19-27.

MCCORMICK, S.D. 1994. « Ontogeny and evolution of salinity tolerance in anadromous salmonids: hormones and heterochrony ». *Estuaries*, volume 17, numéro 1A, pp. 26-33.

- MCCORMICK, S.D. 2001. « Endocrine control of osmoregulation in teleost fish ». *American Zoologist*, volume 41, numéro 4, pp. 781-794.
- MELLINGER, J. 2002. *Sexualité et reproduction des poissons*. Paris : CNRS Éditions. 350 p.
- MÉNDEZ, E., A. SMITH, M.L. FIGUEIREDO-GARUTTI, J.V. PLANAS, I. NAVARRO et J. GUTIÉRREZ. 2001. « Receptors for insulin-like growth factor-I (IGF-I) predominate over insulin receptors in skeletal muscle throughout the life cycle of brown trout, *Salmo trutta* ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 122, numéro 2, pp. 148-157.
- MENUET, A., I. ANGLADE, G. FLOURIOT, F. PAKDEL et O. KAH. 2001. « Tissue-specific expression of two structurally different estrogen receptor alpha isoforms along the female reproductive axis of an oviparous species, the rainbow trout ». *Biology of Reproduction*, volume 65, numéro 5, pp. 1548-1557.
- MERILÄ, J. et P. CRNOKRAK. 2001. « Comparison of genetic differentiation at marker loci and quantitative traits ». *Journal of Evolutionary Biology*, volume 14, numéro 6, pp. 892-903.
- MILLER, K.M., A.D. SCHULZE, N. GINTHER, S. LI, D.A. PATTERSON, A.P. FARRELL et S.G. HINCH. 2009. « Salmon spawning migration: metabolic shifts and environmental triggers ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part D*, volume 4, numéro 2, pp. 75-89.
- MOHAN, S., C. RICHMAN, R. GUO, C.R. LIBANATI, J.E. WERGEDAL et D.J. BAYLINK. 2000. « Skeletal changes in mice lacking IGF-I or IGF-II gene: evidence for a critical role for IGFs in bone accretion during puberty ». *Journal of Bone and Mineral Research*, volume 15, supplément 1, p. S147.
- MOMMSEN, T.P. 2004. « Salmon spawning migration and muscle protein metabolism: the August Krogh principle at work ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, volume 139, numéro 3, pp. 383-400.

- MOMMSEN, T.P., C.J. FRENCH et P.W. HOCHACHKA. 1980. « Sites and pattern of protein and amino acid utilization during the spawning migration of salmon ». *Canadian Journal of Zoology*, volume 58, numéro 10, pp. 1785-1799.
- MORI, T., H. MATSUMOTO et H. YOKOTA. 1998. « Androgen-induced vitellogenin gene expression in primary cultures of rainbow trout hepatocytes ». *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, volume 67, numéro 2, pp. 133-141.
- MORINVILLE, G.R. et J.B. RASMUSSEN. 2003. « Early juvenile bioenergetic differences between anadromous and resident brook trout (*Salvelinus fontinalis*) ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 60, numéro 4, pp. 401-410.
- MORINVILLE, G.R. et J.B. RASMUSSEN. 2008. « Distinguishing between juvenile anadromous and resident brook charr (*Salvelinus fontinalis*) using morphology ». *Environmental Biology of Fishes*, volume 81, numéro 2, pp. 171-184.
- MORITA, K. et M.A. FUKUWAKA. 2006. « Does size matter most? The effect of growth history on probabilistic reaction norm for salmon maturation ». *Evolution*, volume 60, numéro 7, pp. 1516-1521.
- MORIYAMA, S., F.G. AYSON et H. KAWAUCHI. 2000. « Growth regulation by insulin-like growth factor-I in fish ». *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, volume 64, numéro 8, pp. 1553-1562.
- MOUCHEL, N., V. TRICHET, B.Y. NAIMI, J.-P. LE PENNEC et J. WOLFF. 1997. « Structure of a fish (*Oncorhynchus mykiss*) vitellogenin gene and its evolutionary implication ». *Gene*, volume 197, numéros 1-2, pp. 147-152.
- MOUSSAVI, M., E.R. NELSON et H.R. HABIBI. 2009. « Seasonal regulation of vitellogenin by growth hormone in the goldfish liver ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 161, numéro 1, pp. 79-82.

- MOUSSEAU, T.A., K. RITLAND et D.D. HEATH. 1998. « A novel method for estimating heritability using molecular markers ». *Heredity*, volume 80, numéro 2, pp. 218-224.
- MRODE, R.A. 2005. *Linear models for the prediction of animal breeding values*. 2^e édition. Wallingford: CAB International. 344 p.
- NADEAU, P.S., S.G. HINCH, K.A. HRUSKA, L.B. PON et D.A. PATTERSON. 2010. « The effects of experimental energy depletion on the physiological condition and survival of adult sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) during spawning migration ». *Environmental Biology of Fishes*, volume 88, numéro 3, pp. 241-251.
- NAIMAN, R.J., S.D. MCCORMICK, W.L. MONTGOMERY et R. MORIN. 1987. « Anadromous brook charr, *Salvelinus fontinalis*: opportunities and constraints for population enhancement ». *Marine Fisheries Review*, volume 49, numéro 4, pp. 1-13.
- NEFF, B.D. et L.M. CARGNELLI. 2004. « Relationships between condition factors, parasite load and paternity in bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus* ». *Environmental Biology of Fishes*, volume 71, numéro 3, pp. 297-304.
- NIELSEN, L.B. et H.H. NIELSEN. 2001. « Purification and characterization of cathepsin D from herring muscle (*Clupea harengus*) ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, volume 128, numéro 2, pp. 351-363.
- NIKINMAA, M. et W. WASER. 2007. « Molecular and cellular studies in evolutionary physiology of natural vertebrate populations: influences of individual variation and genetic components on sampling and measurements ». *Journal of Experimental Biology*, volume 210, numéro 11, pp. 1847-1857.
- NILSEN, T.O., L.O.E. EBBESSON, P. KIILERICH, B.T. BJÖRNSSON, S.S. MADSEN, S.D. MCCORMICK et S.O. STEFANSSON. 2008. « Endocrine systems in juvenile

- MOUSSEAU, T.A., K. RITLAND et D.D. HEATH. 1998. « A novel method for estimating heritability using molecular markers ». *Heredity*, volume 80, numéro 2, pp. 218-224.
- MRODE, R.A. 2005. *Linear models for the prediction of animal breeding values*. 2^e édition. Wallingford: CAB International. 344 p.
- NADEAU, P.S., S.G. HINCH, K.A. HRUSKA, L.B. PON et D.A. PATTERSON. 2010. « The effects of experimental energy depletion on the physiological condition and survival of adult sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) during spawning migration ». *Environmental Biology of Fishes*, volume 88, numéro 3, pp. 241-251.
- NAIMAN, R.J., S.D. MCCORMICK, W.L. MONTGOMERY et R. MORIN. 1987. « Anadromous brook charr, *Salvelinus fontinalis*: opportunities and constraints for population enhancement ». *Marine Fisheries Review*, volume 49, numéro 4, pp. 1-13.
- NEFF, B.D. et L.M. CARGNELLI. 2004. « Relationships between condition factors, parasite load and paternity in bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus* ». *Environmental Biology of Fishes*, volume 71, numéro 3, pp. 297-304.
- NIELSEN, L.B. et H.H. NIELSEN. 2001. « Purification and characterization of cathepsin D from herring muscle (*Clupea harengus*) ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, volume 128, numéro 2, pp. 351-363.
- NIKINMAA, M. et W. WASER. 2007. « Molecular and cellular studies in evolutionary physiology of natural vertebrate populations: influences of individual variation and genetic components on sampling and measurements ». *Journal of Experimental Biology*, volume 210, numéro 11, pp. 1847-1857.
- NILSEN, T.O., L.O.E. EBBESSON, P. KIILERICH, B.T. BJÖRNSSON, S.S. MADSEN, S.D. MCCORMICK et S.O. STEFANSSON. 2008. « Endocrine systems in juvenile

- anadromous and landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar*): Seasonal development and seawater acclimation ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 155, numéro 3, pp. 762-772.
- NORBECK, L.A., J.D. KITTLSON et M.A. SHERIDAN. 2007. « Resolving the growth-promoting and metabolic effects of growth hormone: differential regulation of GH-IGF-I system components ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 151, numéro 3, pp. 332-341.
- NORDGARDEN, U., T. HANSEN, G.-I. HEMRE, A. SUNDBY et B.T. BJÖRNSSON. 2005. « Endocrine growth regulation of adult Atlantic salmon in seawater: the effects of light regime on plasma growth hormone, insulin-like growth factor-I and insulin levels ». *Aquaculture*, volume 250, numéros 3-4, pp. 862-871.
- OJIMA, D., R.J. PETERSEN, J. WOLKERS, H.K. JOHNSEN et E.H. JØRGENSEN. 2009. « Growth hormone and cortisol treatment stimulate seawater tolerance in both anadromous and landlocked Arctic charr ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, volume 153, numéro 4, pp. 378-385.
- OLEKSIK, M.F., G.A. CHURCHILL et D.L. CRAWFORD. 2002. « Variation in gene expression within and among natural populations ». *Nature Genetics*, volume 32, numéro 2, pp. 261-266.
- OLEKSIK, M.F., J.L. ROACH et D.L. CRAWFORD. 2005. « Natural variation in cardiac metabolism and gene expression in *Fundulus heteroclitus* ». *Nature Genetics*, volume 37, numéro 1, pp. 67-72.
- PAKDEL, F., F. DELAUNAY, B. DUCOURET, G. FLOURIOT, L. KERN, G. LAZENNEC, Y. LE DRÉAN, F. PETIT, G. SALBERT, D. SALIGAUT, M. TUJAGUE et Y. VALOTAIRE. 1997. « Regulation of gene expression and biological activity of rainbow trout estrogen receptor ». *Fish Physiology and Biochemistry*, volume 17, numéros 1-6, pp. 123-133.

- PALAMARCHUK, A., O. GRITSENKO, E. HOLTHUIZEN, J. SUSSENBACH, A. CAELERS, M. REINECKE et V. KAVSAN. 2002. « Complete nucleotide sequence of the chum salmon insulin-like growth factor II gene ». *Gene*, volume 295, numéro 2, pp. 223-230.
- PALAMARCHUK, A.Y., P.E. HOLTHUIZEN, W.E.G. MÜLLER, J.S. SUSSENBACH et V.M. KAVSAN. 1997. « Organization and expression of the chum salmon insulin-like growth factor II gene ». *FEBS Letters*, volume 416, numéro 3, pp. 344-348.
- PANSERAT, S. et S. KAUSHIK. 2002. « Régulation nutritionnelle du métabolisme glucidique chez les poissons: exemple de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), faible utilisatrice des glucides alimentaires ». *Productions Animales*, volume 15, numéro 2, pp. 109-117.
- PENNELL, W. et B.A. BARTON. 1996. *Principles of salmonid culture*. Amsterdam : Elsevier. 1039 p.
- PERRY, G.M.L., C. AUDET, B. LAPLATTE et L. BERNATCHEZ. 2004. « Shifting patterns in genetic control at the embryo-alevin boundary in brook charr ». *Evolution*, volume 58, numéro 9, pp. 2002-2012.
- PERRY, G.M.L., C. AUDET et L. BERNATCHEZ. 2005. « Maternal genetic effects on adaptive divergence between anadromous and resident brook charr during early life history ». *Journal of Evolutionary Biology*, volume 18, numéro 5, pp. 1348-1361.
- PETTERSSON, L.B. et C. BRÖNMARK. 1999. « Energetic consequences of an inducible morphological defence in crucian carp ». *Oecologia*, volume 121, numéro 1, pp. 12-18.
- PICHÉ, J., J.A. HUTCHINGS et W. BLANCHARD. 2008. « Genetic variation in threshold reaction norms for alternative reproductive tactics in male Atlantic salmon, *Salmo salar* ». *Proceedings of the Royal Society B*, volume 275, numéro 1642, pp. 1571-1575.

- PIERCE, A.L., J.T. DICKEY, D.A. LARSEN, H. FUKADA, P.SWANSON et W.W. DICKHOFF. 2004. « A quantitative real-time RT-PCR assay for salmon IGF-I mRNA, and its application in the study of GH regulation of IGF-I gene expression in primary culture of salmon hepatocytes ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 135, numéro 3, pp. 401-411.
- PIERCE, A.L., M. SHIMIZU, B.R. BECKMAN, D.M. BAKER et W.W. DICKHOFF. 2005. « Time course of the GH/IGF axis response to fasting and increased ration in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 140, numéro 3, pp. 192-202.
- POWER, G. 1980. « The brook charr, *Salvelinus fontinalis* ». Dans *Charrs: Salmonid Fishes of the Genus Salvelinus* (Balon, E.K., éd.), pp. 141-203. La Haye (Pays-Bas): Dr. W. Junk Publishers.
- REINECKE, M., A. SCHMID, R. ERMATINGER et D. LOFFING-CUENI. 1997. « Insulin-Like Growth Factor I in the Teleost *Oreochromis mossambicus*, the Tilapia: Gene Sequence, Tissue Expression, and Cellular Localization ». *Endocrinology*, volume 138, numéro 9, pp. 3613-3619.
- REIS-HENRIQUES, M.A., M. FERREIRA, L. SILVA et A. DIAS. 2000. « Evidence for an involvement of vitellogenin in the steroidogenic activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) vitellogenic oocytes ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 117, numéro 2, pp. 260-267.
- RICHARDS, J.G., J.W. SEMPLE, J.S. BYSTRIANSKY et P.M. SCHULTE. 2003. « Na⁺/K⁺-ATPase α -isoform switching in gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during salinity transfer ». *Journal of Experimental Biology*, volume 206, numéro 24, pp. 4475-4486.
- RILEY, L.G., T. HIRANO et E.G. GRAU. 2002. « Disparate effects of gonadal steroid hormones on plasma and liver mRNA levels of insulin-like growth factor-I and vitellogenin in the tilapia, *Oreochromis mossambicus* ». *Fish Physiology and Biochemistry*, volume 26, numéro 3, pp. 223-230.

- RILEY, L.G., T. HIRANO et E.G. GRAU. 2004. « Estradiol-17 β and dihydrotestosterone differentially regulate vitellogenin and insulin-like growth factor-I production in primary hepatocytes of the tilapia *Oreochromis mossambicus* ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, volume 138, numéro 2, pp. 177-186.
- RIOS, F.S., G. MORAES, E.T. OBA, M.N. FERNANDES, L. DONATTI, A.L. KALININ et F.T. RANTIN. 2006. « Mobilization and recovery of energy stores in traíra, *Hoplias malabaricus* Bloch (Teleostei, Erythrinidae) during long-term starvation and after re-feeding ». *Journal of Comparative Physiology B*, volume 176, numéro 7, pp. 721-728.
- ROFF, D.A. 1997. *Evolutionary Quantitative Genetics*. New York : Chapman and Hall. 493 p.
- ROWE, D.K., J.E. THORPE et A.M. SHANKS. 1991. « Role of fat stores in the maturation of male Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 48, numéro 3, pp. 405-413.
- SAKAMOTO, T. et T. HIRANO. 1993. « Expression of insulin-like growth factor I gene in osmoregulatory organs during seawater adaptation of the salmonid fish: possible mode of osmoregulatory action of growth hormone ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, volume 90, numéro 5, pp. 1912-1916.
- SALEM, M., P.B. KENNEY, C.E. REXROAD et J. YAO. 2006. « Molecular characterization of muscle atrophy and proteolysis associated with spawning in rainbow trout ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part D*, volume 1, numéro 2, pp. 227-237.
- SCHLUTER, D. 2000. *The Ecology of Adaptive Radiation*. Oxford, Oxford University Press. 288 p.

- SCOTT, W.B. et E.J. CROSSMAN. 1990. *Poissons d'eau douce du Canada*. Ottawa, Bulletin/Office des recherches sur les pêcheries du Canada, Service des pêches et des sciences de la mer. 1026 p.
- SEIDELIN, M. et S.S. MADSEN. 1999. « Endocrine control of Na⁺,K⁺-ATPase and chloride cell development in brown trout (*Salmo trutta*): interaction of insulin-like growth factor-I with prolactin and growth hormone ». *Journal of Endocrinology*, volume 162, numéro 1, pp. 127-135.
- SHEARER, K.D. et P. SWANSON. 2000. « The effect of whole body lipid on early sexual maturation of 1+ age male chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) ». *Aquaculture*, volume 190, numéros 3-4, pp. 343-367.
- SHERIDAN, M.A. et T.P. MOMMSEN. 1991. « Effects of nutritional state on in vivo lipid and carbohydrate metabolism of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* ». *General Comparative Endocrinology*, volume 81, numéro 3, pp. 473-483.
- SHIMIZU, M., P. SWANSON et W.W. DICKHOFF. 1999. « Free and protein-bound insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding proteins in plasma of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 115, numéro 3, pp. 398-405.
- SHIMIZU, M., P. SWANSON, A. HARA et W.W. DICKHOFF. 2003. « Purification of a 41-kDa insulin-like growth factor binding protein from serum of chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 132, numéro 1, pp. 103-111.
- SILVERSTEIN, J.T. et W.K. HERSHBERGER. 1992. « Precocious maturation in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): estimation of the additive genetic variance ». *Journal of Heredity*, volume 83, numéro 4, p. 282-286.
- SILVERSTEIN, J.T., K.D. SHEARER, W.W. DICKHOFF et E.M. PLISETSKAYA. 1998. « Effects of growth and fatness on sexual development of Chinook salmon

(*Oncorhynchus tshawytscha*) parr ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 55, numéro 11, pp. 2376-2382.

STEARNS, S.C. 1992. *The evolution of life histories*. Oxford : Oxford University Press. 264 p.

THÉRIAULT, V. et J.J. DODSON. 2003. « Body size and the adoption of a migratory tactic in brook charr ». *Journal of Fish Biology*, volume 63, numéro 5, pp. 1144-1159.

THÉRIAULT, V., D. GARANT, L. BERNATCHEZ et J.J. DODSON. 2007a. « Heritability of life history tactics and genetic correlation with body size in a natural population of brook charr (*Salvelinus fontinalis*) ». *Journal of Evolutionary Biology*, volume 20, numéro 6, pp. 2266-2277.

THÉRIAULT, V., L. BERNATCHEZ et J.J. Dodson. 2007b. « Mating system and individual reproductive success of sympatric anadromous and resident brook charr, *Salvelinus fontinalis*, under natural conditions ». *Behavioral Ecology and Sociobiology*, volume 62, numéro 1, pp. 51-65.

THORPE, J.E. 1989. « Developmental variation in salmonid populations ». *Journal of Fish Biology*, volume 35, supplément 1, pp. 295-303.

THORPE, J.E. 1994. « An alternative view of smolting in salmonids ». *Aquaculture*, volume 121, numéros 1-3, pp. 105-113.

THROWER, F.P., J.J. HARD et J.E. JOYCE. 2004. « Genetic architecture of growth and early life-history transitions in anadromous and derived freshwater populations of steelhead ». *Journal of Fish Biology*, volume 65, supplément A, pp. 286-307.

TYLER, C.R. et J.P. SUMPTER. 1996. « Oocyte growth and development in teleosts ». *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, volume 6, numéro 3, pp. 287-318.

- UNWIN, M.J., C.W. POORTENAAR, D.K. ROWE, N.C. BOUSTEAD et M.J.R. PORTER. 2004. « Seasonal profiles in growth, energy reserves, gonad development, and plasma steroids in age 1+ cultured Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) females ». *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, volume 38, numéro 1, pp. 29-41.
- VISSCHER, P.M., W.G. HILL et N.R. WRAY. 2008. « Heritability in the genomics era – concepts and misconceptions ». *Nature Reviews Genetics*, volume 9, numéro 4, pp. 255-266.
- VOLKOFF, H., L.F. CANOSA, S. UNNIAPPAN, J.M. CERDÁ-REVERTER, N.J. BERNIER, S.P. KELLY et R.E. PETER. 2005. « Neuropeptides and the control of food intake in fish ». *General and Comparative Endocrinology*, volume 142, numéros 1-2, pp. 3-19.
- VONG, Q.P., K.M. CHAN et C.H. CHENG. 2003. « Quantification of common carp (*Cyprinus carpio*) IGF-I and IGF-II mRNA by real-time PCR: differential regulation of expression by GH ». *Journal of Endocrinology*, volume 178, numéro 3, pp. 513-521.
- WEIGENSBERG, I. et D.A. ROFF. 1996. « Natural heritabilities: can they be reliably estimated in the laboratory ». *Evolution*, volume 50, numéro 6, pp. 2149-2157.
- WHALEN, K.G. et D.L. PARRISH. 1999. « Effect of maturation on parr growth and smolt recruitment of Atlantic salmon ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, volume 56, numéro 1, pp. 79-86.
- WIEGAND, M.D. 1996. « Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish ». *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, volume 6, numéro 3, pp. 259-286.

- WILD, V., H. SIMIANER, H.M. GJØEN et B. GJERDE. 1994. « Genetic parameters and genotype × environment interaction for early sexual maturity in Atlantic salmon (*Salmo salar*) ». *Aquaculture*, volume 128, numéros 1-2, pp. 51-65.
- WILSON, A.J., J.A. HUTCHINGS et M.M. FERGUSON. 2003. « Selective and genetic constraints on the evolution of body size in a stream-dwelling salmonid fish ». *Journal of Evolutionary Biology*, volume 16, numéro 4, pp. 584-594.
- WHITLOCK, M.C. 1999. « Neutral additive genetic variance in a metapopulation ». *Genetical Research*, volume 74, numéro 3, pp. 215-221.
- WOOD, A.W., C. DUAN et H.A. BERN. 2005. « Insulin-like growth factor signaling in fish ». *International Review of Cytology*, volume 243, pp. 215-285.
- WYSUJACK, K., L.A. GREENBERG, E. BERGMAN et I.C. OLSSON. 2009. « The role of the environment in partial migration: food availability affects the adoption of a migratory tactic in brown trout *Salmo trutta* ». *Ecology of Freshwater Fish*, volume 18, numéro 1, pp. 52-59.
- YAMAMOTO, S. et K. MORITA. 2002. « Interpopulation comparison of size and age at smolting of white-spotted charr, *Salvelinus leucomaenis* ». *Ecology of Freshwater Fish*, volume 11, numéro 4, pp. 281-284.
- YAMASHITA, M. et S. KONAGAYA. 1990. « High activities of cathepsins B, D, H and L in the white muscle of chum salmon in spawning migration ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, volume 95, numéro 1, pp. 149-152.
- YAMASHITA, M. et S. KONAGAYA. 1992. « An enzyme-inhibitor complex of cathepsin L in the white muscle of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in spawning migration ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, volume 103, numéro 4, pp. 1005-1010.

