



Université du Québec
à Rimouski

**EFFET DU STRESS CHEZ LES FEMELLES D'OMBLE DE
FONTAINE (*SALVELINUS FONTINALIS*) EN PÉRIODE DE
MATURATION SEXUELLE SUR LES TRAITS DES
PREMIERS STADES DE DÉVELOPPEMENT**

Mémoire présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en océanographie

en vue de l'obtention du grade de maître ès Sciences

PAR

© LAURENCE DENEULT-TREMBLAY

Février 2016

Composition du jury :

Réjean Tremblay, président du jury, Université du Québec à Rimouski

Céline Audet, directrice de recherche, Université du Québec à Rimouski

Nadia Aubin-Horth, codirectrice de recherche, Université Laval

Pierre Magnan, examinateur externe, Université du Québec à Trois-Rivières

Dépôt initial le 30 juillet 2015

Dépôt final le 22 février 2016

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

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

REMERCIEMENTS

Je voudrais d'abord remercier ma directrice de recherche, Céline Audet, de m'avoir donné l'occasion de découvrir le monde de l'aquaculture au cours des dernières années. Le travail à la station aquicole a été pour moi une expérience très enrichissante, où il m'a été permis de travailler avec des équipes formidables et de m'émerveiller devant chaque nouveauté. Que ce soit à la station ou en laboratoire, tu as su, Céline, me partager ta passion, ta grande expertise et ta rigueur de travail. Merci pour ta grande confiance envers moi et pour m'avoir acceptée dans ton équipe. Mon projet de maîtrise ne serait pas ce qu'il est aujourd'hui si ce n'était de tes précieux conseils et suggestions, qui m'ont guidée au cours de mon cheminement et m'ont poussée à me dépasser jour après jour.

Je tiens également à remercier ma codirectrice, Nadia Aubin-Horth, pour sa grande disponibilité tout au long de ma maîtrise. Merci d'avoir pris le temps de me lire et me relire encore Nadia, tes commentaires, idées et suggestions m'ont toujours encouragée et ont permis d'améliorer sans cesse mon projet.

Je voudrais aussi remercier Réjean Tremblay et Pierre Magnan, qui ont accepté de prendre le temps de lire mon mémoire et de le corriger.

Merci à mon collègue Sergio Cortez Ghio pour la super équipe que nous formions lors des manipulations et de la période de frai à la station. Les journées ont été longues, mais ont passé très vite grâce à ta présence, ton aide et ton support moral! Il a été très agréable de cheminer dans nos maîtrises respectives en même temps et de pouvoir compter un sur l'autre au cours de cette aventure.

Je veux aussi remercier les filles du labo : Mélanie, Wahiba, Sahar, Tamara et Aurélie, pour vos précieux conseils, votre écoute et votre bonne humeur! Un merci tout

spécial à Renée et Michèle pour votre aide inconditionnelle, votre patience et votre grande disponibilité. Je voudrais également prendre le temps de remercier toutes les personnes qui ont pris soin des poissons à la station aquicole au cours de ma maîtrise: Adeline, Angela, Alexe et Isabelle.

Je tiens à remercier tout spécialement Nathalie pour son aide considérable à la station. Je te suis reconnaissante d'avoir pris le temps de répondre à mes questions souvent nombreuses et de m'avoir écoutée et rassurée lorsque j'en avais besoin. Ta bonne humeur contagieuse et ton soutien ont rendu mon travail à la station des plus agréables.

Je voudrais en plus remercier mes amis de l'ISMER, avec qui les journées ont passé vite, mais ont toujours été remplies de plaisir. Un très gros merci plus particulièrement à Noémie et Mariève, qui ont été des amies en or et des compagnes de travail exceptionnelles pendant ma maîtrise. Merci pour le soutien moral, les fous rires, la complicité et votre écoute. Ces deux années à l'ISMER n'auraient pas été les mêmes sans vous!

Merci aussi aux membres de ma famille, qui n'ont jamais manqué de m'encourager et qui ont toujours cru en moi, même dans mes moments de doute. Maman, Papa, je ne vous remercierai jamais assez de m'avoir épaulée à tous les jours de cette aventure.

Finalement, merci à Jocelyn pour sa grande patience, son écoute, ses conseils judicieux et son amour. Jocelyn, ta capacité à gérer de façon aussi rationnelle mes tourbillons d'émotions ne cessera jamais de m'étonner!

RÉSUMÉ

Chez les poissons, des facteurs maternels peuvent être transférés dans les oocytes en période de maturation sexuelle. L'état endocrinien des femelles pendant cette période peut donc influencer le développement de la progéniture. Lorsque des femelles sont soumises à un stress au cours de l'oogenèse, une élévation des concentrations de cortisol plasmatique est généralement observée chez celles-ci en raison de l'activation de la réponse au stress, concentrations qui se reflètent dans les œufs qu'elles produisent. Chez certaines espèces de poissons, le cortisol est connu pour avoir des effets néfastes sur la viabilité, la survie et la croissance des embryons. Afin d'évaluer la façon dont les effets d'un stress maternel prénatal se répercutent sur les traits des premiers stades de développement de l'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*), des groupes de femelles, incluant des sous-groupes formés de sœurs, de la souche Laval ont été chroniquement stressées par émerisions hebdomadaires ou nourries quotidiennement avec de la moulée contenant du cortisol pendant la période de maturation sexuelle. Des œufs produits par des femelles non stressées ont également été baignés dans du cortisol pendant trois heures avant la fécondation, de façon à isoler les effets du cortisol des effets généraux du stress maternel. La progéniture provenant de ces femelles et des œufs baignés dans le cortisol a été suivie et échantillonnée pendant les premiers stades de développement et comparée à la progéniture provenant de femelles contrôles. Les résultats démontrent que l'exposition des femelles à des conditions susceptibles d'augmenter leur niveau de stress n'a pas eu d'effets majeurs et prolongés sur les traits phénotypiques de la progéniture produite, puisque de façon générale le volume du sac vitellin à l'éclosion, le taux de mortalité, la taille à l'éclosion et la fréquence de malformations des alevins étaient similaires au groupe contrôle. En outre, tous les traits phénotypiques étudiés étaient similaires chez la progéniture provenant des œufs baignés dans le cortisol et celle provenant de femelles du groupe contrôle, à l'exception de la longueur à l'éclosion. Globalement, ces résultats suggèrent une tolérance élevée des embryons d'ombles de fontaine au stress maternel prénatal.

Mots clés: cortisol, stress maternel prénatal, développement embryonnaire, traits phénotypiques, omble de fontaine

ABSTRACT

In fish, maternal factors can be deposited into oocytes during sexual maturation. The endocrine status of females during this period can therefore influence the development of offspring. Indeed, when females are subjected to a stress during oogenesis, elevated cortisol concentrations are usually observed in their plasma due to the activation of the stress response, concentrations that are also reflected in the eggs they produce. In some fish species, cortisol is known to have negative effects on viability, survival and growth of embryos. To investigate the effects of a prenatal maternal stress on phenotypic traits of early developmental stages of brook charr (*Salvelinus fontinalis*), females, including groups of sisters, from the Laval strain were chronically stressed by weekly emersions or fed daily with cortisol-enriched feed during sexual maturation. Eggs produced by non-stressed females were also bathed in cortisol for three hours before fertilization, to isolate the effects of cortisol from the general effects of maternal stress. Offspring from these females and from eggs that were bathed in cortisol were monitored and sampled during early developmental stages and compared to offspring from control females. Results demonstrate that exposure of females to conditions that may increase their stress level did not have major and prolonged effects on phenotypic traits of offspring: size of the yolk sac, length of fry, frequency of malformations and mortality at hatch were generally similar to those in the control group. In addition, all phenotypic traits studied were similar in offspring coming from eggs that had been bathed in cortisol and from females of the control group, except for size at hatch. Overall, these results suggest that farmed brook charr embryos may have a high tolerance to prenatal maternal stress.

Keywords: cortisol, prenatal maternal stress, embryonic development, phenotypic traits, brook charr

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	vii
RÉSUMÉ.....	ix
ABSTRACT.....	xi
TABLE DES MATIÈRES.....	xiii
LISTE DES TABLEAUX.....	xv
LISTE DES FIGURES.....	xvii
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE 1 Effet du stress chez les femelles d'omble de fontaine (<i>Salvelinus fontinalis</i>) en période de maturation sexuelle sur les traits des premiers stades de développement.....	11
1.1 RÉSUMÉ.....	11
1.2 ABSTRACT.....	13
1.3 INTRODUCTION.....	14
1.4 MATERIAL AND METHODS.....	16
1.4.1 Experimental design.....	16
1.4.2 Egg and fry rearing.....	18
1.4.3 Measured traits.....	18
1.4.4 Cortisol extraction and measurement in unfertilized eggs.....	19
1.4.5 Plasma cortisol measurement in females.....	19
1.4.6 Statistical analysis.....	19
1.5 RESULTS.....	21

1.5.1 Results from the three complete groups (sister in each experimental group)	23
1.5.2 Results from all data available (unbalanced design)	28
1.6 DISCUSSION	28
CHAPITRE 2 Discussion Générale	37
CONCLUSION GÉNÉRALE	43
ANNEXE I Représentation de la progéniture obtenue entre la mi-novembre et la mi-décembre 2013 à partir des 21 femelles	45
ANNEXE II Données récoltées (A) et variables calculées (B) pour chacune des familles et chacun des stades de développement	47
ANNEXE III Consommation moyenne de cortisol dans les bassins 1 (▲) et 2 (●) pendant toute la durée du traitement (moyenne ± É.T.)	49
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	51

LISTE DES TABLEAUX

Table 1. Effect of induced chronic stress on plasma cortisol concentration of females, relative fecundity, and mean egg diameter	22
Table 2. Effect of cortisol on early developmental stages of brook charr	24
Table 3. Effect of induced chronic stress in female brook charr on early developmental stages of progeny (balanced experimental design)	26
Table 4. Effect of induced chronic stress in female brook charr on early developmental stages of progeny (unbalanced experimental design)	29

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Représentation de l'axe hypothalamo-hypophysio-interrénalien (HPI) et de la cascade hormonale associée à la réponse au stress	3
Figure 2. Effect of induced chronic stress in female brook charr on progeny growth between hatch and exogenous feeding (balanced experimental design)	27
Figure 3. Effect of induced chronic stress in female brook charr on progeny growth between hatch and exogenous feeding (unbalanced experimental design)	30

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le concept fondamental de stress est aujourd'hui largement accepté par les scientifiques (Wendelaar Bonga, 1997; Moberg, 2000; Goldstein & Kopin, 2007). En effet, une notion commune à la plupart des définitions du stress implique qu'il s'agit d'une condition où l'état d'équilibre dynamique d'un organisme, appelé homéostasie, se retrouve perturbé ou menacé par des stimuli intrinsèques ou extrinsèques (Barton & Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997; Schreck *et al.*, 2001). Ces stimuli, ou facteurs de stress, auront alors pour effet de provoquer un ensemble coordonné de réponses physiologiques et biochimiques universelles chez les organismes, qui leur permettront de surmonter la menace (Pickering, 1981; Wendelaar Bonga, 1997).

Au cours de leur vie, les animaux sont soumis à divers facteurs de stress, autant en milieu naturel que contrôlé (e.g. Eriksen *et al.*, 2013). Ces facteurs de stress peuvent se traduire par des changements drastiques dans l'environnement physique, comme des variations de température ou de salinité, mais peuvent également impliquer tous types d'interactions inter- et intraspécifiques, telles que la prédation ou encore la compétition pour l'espace, la nourriture ou un partenaire sexuel (Pickering, 1993; Wendelaar Bonga, 1997). Des dérangements anthropiques comme l'exploitation des ressources naturelles et l'eutrophisation ou encore la pollution des cours d'eau (pH faible, présence de composés organiques ou métaux lourds) peuvent aussi être des sources importantes de stress, en particulier pour les organismes aquatiques (Wendelaar Bonga, 1997). Il a également été démontré que certaines pratiques d'aquaculture, incluant la manipulation, le transport et l'entassement en bassins pouvaient causer un stress non-négligeable chez les organismes en élevage (Barton & Iwama, 1991; Pickering, 1993; Pankhurst & Van der Kraak, 1997; Wendelaar Bonga, 1997).

Chez les vertébrés et donc les poissons osseux, la réponse globale au stress est bien documentée et se divise principalement en trois niveaux, soit les réponses primaires, secondaires et tertiaires (Barton & Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997; Barton, 2002; Bernier *et al.*, 2009). La réponse neuroendocrine primaire passe globalement par l'activation de l'axe hypothalamo-hypophysaire-interrénallien (HPI) (Figure 1), qui consiste en la production et libération de corticolibérine (CRF) par l'hypothalamus, un neuropeptide clé régulant ensuite la sécrétion de l'hormone corticotrope (ACTH) par l'hypophyse (e.g. Bernier *et al.*, 2009). Cette dernière stimule alors la production par le système interrénallien d'hormones de stress, telles que les glucocorticoïdes (cortisol), qui seront libérées dans le système circulatoire (Wendelaar Bonga, 1997; Sapolsky *et al.*, 2000). Plus précisément, le contrôle de la libération de cortisol s'effectue principalement par la boucle de rétroaction négative de l'hormone présente à tous les niveaux de l'axe HPI (Barton, 2002). En même temps, lors d'un stress, l'activation du système nerveux sympathique entraîne la production de catécholamines par les cellules chromaffines, ces catécholamines étant libérées dans le système circulatoire des organismes (Wendelaar Bonga, 1997). Les actions immédiates de l'ensemble de ces hormones de stress constituent alors la réponse secondaire, qui implique surtout des modifications au niveau des propriétés chimiques du sang et de certaines voies métaboliques chez les individus (Schreck *et al.*, 2001; Barton, 2002). En effet, les catécholamines entraînent la libération de glucose par le foie, en plus d'augmenter la capacité de transport d'oxygène du sang, la ventilation des branchies et le débit cardiaque (Wendelaar Bonga, 1997). À court terme, les glucocorticoïdes modifient pour leur part la composition chimique du sang et dévient l'approvisionnement en énergie des diverses voies métaboliques en stimulant principalement la néoglucogenèse (Wendelaar Bonga, 1997; Sapolsky *et al.*, 2000). Finalement, la réponse tertiaire s'observe généralement au niveau de l'individu (Schreck *et al.*, 2001). Elle est le résultat direct de l'activation des réponses au stress primaires et secondaires et se caractérise le plus souvent par des effets néfastes sur la croissance, la survie, la résistance aux maladies, le comportement d'alimentation, le fonctionnement du cerveau, du système nerveux ainsi que de la mémoire spatiale (Maule *et al.*, 1987; Barton & Iwama, 1991; Pickering, 1993; Wendelaar Bonga, 1997; Charmandari

et al., 2005; Gaikwad *et al.*, 2011). En effet, lorsque les organismes sont soumis à un stress intense et continu (chronique), la réponse globale au stress peut devenir dysfonctionnelle (Wendelaar Bonga, 1997).

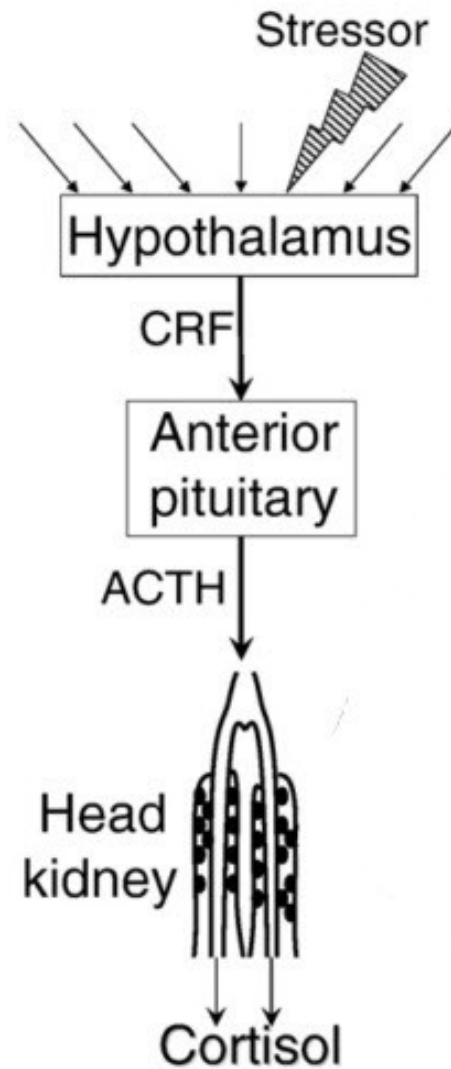


Figure 1. Représentation de l'axe hypothalamo-hypophyso-interrénal (HPI) et de la cascade hormonale associée à la réponse au stress. CRF: corticolibérine, ACTH: hormone corticotrope (tirée de Aslop & Vijayan, 2009).

Plusieurs études ont démontré des effets supprimeurs du stress et des niveaux élevés de cortisol plasmatique sur divers aspects de la reproduction, chez plusieurs espèces de poissons (e.g. Pankhurst & Van der Kraak, 1997). Une diminution des concentrations de vitellogénine et de stéroïdes sexuels plasmatiques (testostérone et 17- β estradiol), une plus faible masse gonadique, une absence de maturation des gonades ou encore une ovulation retardée ou devancée sont tous des effets qui ont parfois été observés suite à une exposition des femelles à un stress aigu ou prolongé (Carragher *et al.*, 1989: truite brune *Salmo trutta* et truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss*; Campbell *et al.*, 1992: truite arc-en-ciel; Campbell *et al.*, 1994: truite arc-en-ciel et truite brune; Pankhurst & Dedual, 1994 et Contreras-Sánchez *et al.*, 1998: truite arc-en-ciel; Haddy & Pankhurst, 1999: dorade *Acanthopagrus butcheri*; Foo & Lam, 1993: tilapia du Mozambique *Oreochromis mossambicus*). De plus, il a été démontré que des truites arc-en-ciel stressées par divers agents de stress 5 fois par semaine ou de façon répétée pendant 9 mois avant le frai peuvent produire des oocytes de plus petite taille (Contreras-Sánchez *et al.*, 1998 et Campbell *et al.*, 1992; 1994), indiquant que la qualité générale des gamètes peut être modifiée par les effets d'un stress. Toutefois, il est important de noter que d'autres études n'ont pu mettre en évidence des différences dans la masse des oocytes et/ou la fécondité chez des femelles exposées à divers types de stress (Kahl *et al.*, 2001: méné à tête de boule *Pimephales promelas*, stress par anesthésie et une ou trois injections intrapéritonéales; Small, 2004: barbe de rivière *Ictalurus punctatus*, stress par administration de cortisol via l'alimentation à 150 mg kg de moule⁻¹ 3 fois par semaine pendant 11 semaines; Tierney *et al.*, 2009: saumon sockeye *Oncorhynchus nerka*, stress lié à la migration naturelle).

Au cours des dernières années, des études sur les effets d'un stress maternel pendant la période de maturation sexuelle sur le phénotype de la progéniture engendrée ont été menées chez les vertébrés. Chez les mammifères et les oiseaux, les individus exposés à un stress avant la naissance peuvent parfois avoir un poids réduit à la naissance, des anomalies congénitales, une immunité déficiente ou un retard dans le développement de la motricité (Braadstad, 1998: mammifères; Eriksen *et al.*, 2003 et Henriksen *et al.*, 2011: oiseaux). Chez les téléostéens, plusieurs auteurs ont rapporté que l'exposition à un stress maternel

prénatal au tout début de l'oogenèse peut avoir des effets négatifs sur la survie, la viabilité et la croissance des embryons (Campbell *et al.*, 1992 et 1994: truite arc-en-ciel; Campbell *et al.*, 1994: truite brune; Eriksen *et al.*, 2006 et 2013: saumon atlantique *Salmo salar*; Mingist *et al.*, 2007: saumon masou *Oncorhynchus masou*), particulièrement lorsqu'un stress sévère est appliqué. Du même coup, la synthèse de vitellogénine est généralement réduite (Leatherland *et al.*, 2010). Il a été montré que les embryons produits par des femelles stressées (détermination sur la base d'une élévation des niveaux de cortisol ou de glucose plasmatique) ont généralement un sac vitellin de moins grand volume et une taille plus petite à l'éclosion, des taux de survie inférieurs, une plus forte asymétrie et un développement plus lent comparativement aux groupes contrôles (Eriksen *et al.*, 2006, 2007 et 2013: saumon atlantique; McCormick, 1998 ; 2009 et Gagliano & McCormick, 2009: demoiselle orangée *Pomacentrus amboinensis*; Ostrand *et al.* 2004: achigan à grande bouche *Micropterus salmoides*; Contreras-Sánchez *et al.*, 1998: truite arc-en-ciel). Mingist *et al.* (2007) ont également observé une corrélation négative entre les niveaux de cortisol trouvés dans les oocytes et le pourcentage de survie des embryons jusqu'au stade oeillé chez le saumon masou. D'autres études ont montré la présence de jeunes plus agressifs (Sloman, 2010: truite brune), plus ou moins mobiles (Espmark *et al.*, 2008; Eriksen *et al.*, 2011 et 2013: saumon atlantique) ou plus sociables (Giesing *et al.*, 2011: épinoche à trois épines *Gasterosteus aculeatus*) suite à une exposition au stress maternel prénatal ou à des concentrations élevées de cortisol, indiquant que le comportement de la progéniture peut être modifié par la présence d'un stress maternel. À l'inverse, certains auteurs ont démontré qu'un stress maternel prénatal ou une exposition à des concentrations élevées de cortisol n'avaient pas d'effets néfastes sur la croissance, le taux d'éclosion ou la survie des embryons (Ayson, 1989: poisson-lapin *Siganus guttatus*, stress par manipulation ou manipulation et injections quotidiennes jusqu'au frai; Stratholt *et al.*, 1997: saumon coho *Oncorhynchus kisutch*, exposition *in ovo* au cortisol; Tierney *et al.*, 2009: saumon sockeye, stress lié à la migration naturelle).

En présence d'effets du stress maternel, l'exposition prolongée aux concentrations élevées de cortisol d'origine maternelle, déposé dans les oocytes et subséquent dans le

sac vitellin, est soupçonnée être la principale cause de la variabilité phénotypique observée chez les embryons (Braadstad, 1998; Huizink *et al.*, 2004: mammifères; Leatherland *et al.*, 2010: téléostéens). Il est reconnu que l'influence maternelle sur le phénotype des petits dans les premiers stades de développement est souvent très importante comparativement à l'influence paternelle (Bernardo, 1996: mammifères; Chambers et Leggett, 1996: poissons marins; Perry *et al.*, 2004: omble de fontaine *Salvelinus fontinalis*) et encore plus avant la résorption du sac vitellin chez les salmonidés (Heath *et al.*, 1999: saumon chinook *Oncorhynchus tshawytscha*; Perry *et al.*, 2004: omble de fontaine). En effet, puisqu'aucun soin n'est assuré par les parents après le frai chez les salmonidés, les femelles ne peuvent influencer le développement de leur jeune autrement que par la qualité des œufs qu'elles produisent (Burton, 2002). Chez les vertébrés, cette contribution particulière de la mère, par laquelle son phénotype et l'environnement dans lequel elle se trouve influencent le phénotype de sa progéniture, a été défini comme un effet maternel (Mousseau & Fox, 1998). Dans ces circonstances, le phénotype d'un rejeton n'est pas déterminé uniquement par l'action de ses propres gènes et de l'environnement où il se trouve (Bernardo, 1996). Il a été suggéré que la présence de ces effets maternels serait un moyen pour les géniteurs d'évaluer leur environnement, de façon à pouvoir optimiser ou ajuster le phénotype des embryons qui y seraient libérés plus tard (Mousseau & Fox, 1998; Gagliano & McCormick, 2009).

Chez les vertébrés, des ARN messagers, des protéines et des hormones, sont déposés dans les oocytes en développement durant la maturation sexuelle (Tata, 1986; Traverso *et al.*, 2011: vertébrés; Lyman-Gingerich & Pelegri, 2007: poisson-zèbre *Danio rerio*). Ainsi, le statut endocrinien des femelles, notamment la concentration de cortisol plasmatique ou ovarien à l'ovulation, est généralement fortement corrélé à celui de sa progéniture au début de l'embryogenèse (McCormick, 1998: demoiselle orangée; Andersson *et al.*, 2011: truite arc-en-ciel). Lorsque des femelles sont soumises à un stress au cours de l'oogenèse, elles possèdent des niveaux plus élevés de glucocorticoïdes dans leur plasma et leur fluide ovarien, en raison de l'activation de la réponse au stress (Stratholt *et al.*, 1997: saumon coho; McCormick, 2006: demoiselle orangée). Du cortisol d'origine maternelle est alors

transféré dans les œufs (Stratholt *et al.*, 1997: saumon coho; McCormick, 1998: demoiselle orangée; Eriksen *et al.*, 2006: saumon atlantique). Encore à ce jour, les mécanismes moléculaires sous-jacents aux effets du stress maternels sont mal connus.

Sans que leur étude n'explore les effets d'un stress maternel sur les traits phénotypiques des embryons, Perry *et al.* (2004) ont observé une contribution génétique maternelle prononcée de femelles ombles de fontaine anadromes sur plusieurs traits phénotypiques reliés au développement embryonnaire avant la résorption du sac vitellin, tels la longueur des embryons, le taux de croissance à l'éclosion, le volume du sac vitellin et le temps de développement jusqu'à l'atteinte de l'alimentation exogène. Ils ont également été les premiers à suggérer pour l'omble de fontaine que la variation des traits phénotypiques observée chez la progéniture au cours des premiers stades de développement s'expliquerait par l'influence d'une composante environnementale maternelle (Perry *et al.*, 2004). Par ailleurs, la très grande majorité des études portant sur les effets du stress maternel chez les poissons ont été conduites, entre autres, sur plusieurs espèces de salmonidés, mais n'ont jamais utilisé l'omble de fontaine comme modèle d'étude, ni confirmé la présence d'effets maternels chez cette espèce en présence d'un stress. L'omble de fontaine est d'ailleurs un modèle de choix, puisqu'il s'agit d'une espèce ayant une importance économique cruciale au Québec. En effet, l'omble de fontaine constitue à elle seule environ 50% de la production piscicole au Québec et est principalement produite pour le marché de l'ensemencement, en support à la pêche sportive dans les lacs et rivières (Morin, 2007). Ainsi, connaître de quelle façon un stress subi par la mère influence le phénotype de sa progéniture permettrait une meilleure compréhension des répercussions éventuelles d'un tel stress sur la valeur adaptative des embryons d'omble de fontaine produits en milieu d'élevage, dans une optique d'amélioration des méthodes d'élevage et du bien-être des animaux utilisés en aquaculture.

La présente étude a pour objectif principal de vérifier si un stress imposé aux femelles pendant l'oogenèse peut induire des modifications dans le développement de la progéniture de l'omble de fontaine. Pour ce faire, deux méthodes susceptibles de faire augmenter la

concentration de cortisol plasmatique ont été utilisées sur les femelles reproductrices de la station aquicole de l'Université du Québec à Rimouski pendant la période de maturation sexuelle. Un premier groupe de femelles a été nourri quotidiennement avec de la moulée contenant du cortisol pendant 9 semaines, avec pour objectif de recréer la réponse hormonale attendue face à une situation de stress chronique sans qu'une manipulation des géniteurs ne soit nécessaire. Les femelles d'un deuxième groupe ont été sorties de l'eau manuellement de façon hebdomadaire pour une période de 10 semaines, de façon à produire un stress chronique chez ces individus. Le stress maternel signifie bien plus qu'une augmentation de cortisol plasmatique. Afin de tester si la réponse éventuelle au stress maternel était essentiellement liée au cortisol et non à d'autres facteurs transmis par la mère, la moitié des œufs d'un troisième groupe de femelles non stressées a été baigné pendant 3 heures dans une suspension de cortisol avant la fécondation, ce qui a permis d'évaluer plus précisément les effets d'une hausse de cortisol dans le liquide ovarien (en présumant qu'un niveau plasmatique élevé de cortisol engendre une diffusion de cette hormone dans le liquide ovarien). Ces trois traitements ont souvent été utilisés de manière isolée dans les différentes études portant sur d'autres espèces de poissons, mais n'ont jamais été réalisés en même temps. Suite à la fécondation, les œufs obtenus de chacune des femelles ont été incubés et suivis pendant tout le développement embryonnaire.

Objectif spécifique et hypothèses

L'objectif spécifique de cette étude vise à déterminer si la condition maternelle influence les traits phénotypiques des embryons et alevins au cours des premiers stades de développement.

H₁ : Il est attendu qu'un stress maternel prénatal ou une exposition *in ovo* au cortisol aura des effets sur les traits phénotypiques associés au développement des embryons et alevins.

Prédiction 1 : Si notre hypothèse est vérifiée, il y aura réduction significative du volume du sac vitellin à l'éclosion, augmentation de la mortalité et de la fréquence des

malformations, ralentissement de la vitesse de développement et réduction de la croissance des embryons et alevins provenant de mères stressées ou d'œufs exposés au cortisol avant la fécondation, comparé à des individus provenant d'un groupe contrôle.

CHAPITRE 1

**EFFET DU STRESS CHEZ LES FEMELLES D'OMBLE DE FONTAINE
(*SALVELINUS FONTINALIS*) EN PÉRIODE DE MATURATION SEXUELLE
SUR LES TRAITS DES PREMIERS STADES DE DÉVELOPPEMENT**

1.1 RÉSUMÉ

Chez les téléostéens, des hormones peuvent être transférées dans les oocytes en période de maturation sexuelle, à des concentrations qui reflètent celles retrouvées dans le plasma des femelles. Ainsi, l'état endocrinien des femelles pendant cette période pourrait influencer le phénotype et la viabilité de la progéniture. Afin de vérifier si un stress maternel chez des femelles omble de fontaine d'élevage (*Salvelinus fontinalis*; souche Laval) pendant la période de maturation sexuelle peut influencer les traits des premiers stades de développement, la progéniture de femelles soumises à l'un des quatre traitements suivants a été incubée et échantillonnée: 1) contrôles, 2) induction de stress chronique par manipulations hebdomadaires, 3) alimentation quotidienne avec de la moulée contenant du cortisol et 4) œufs produits par des femelles contrôles, mais baignés dans du cortisol pendant trois heures avant la fécondation. Les résultats ont montré que les traitements n'ont pas eu d'effets prononcés et prolongés sur le volume du sac vitellin, les fréquences de malformations et le pourcentage d'alevins siamois à l'éclosion ainsi que sur la mortalité des alevins. Entre l'éclosion et la résorption du sac vitellin, la croissance de la progéniture provenant de femelles stressées par émerisions hebdomadaires était cependant plus faible que celle de la progéniture provenant du groupe contrôle. La vitesse de développement de la progéniture de ces mêmes femelles stressées par émerision a aussi été plus rapide de la fécondation au stade oeillé, pour ensuite ralentir, comparativement à la vitesse de développement observée chez la progéniture du groupe contrôle. Les œufs provenant de femelles nourries au cortisol avait également un taux mortalité plus faible que ceux du

groupe contrôle 24 heures après la fécondation et au stade oeillé. Les résultats ont aussi montré une réduction de la taille à l'éclosion chez les alevins exposés *in ovo* au cortisol, bien que l'ensemble des autres traits phénotypiques mesurés chez ces alevins étaient similaires à ceux mesurés chez les contrôles. Ces quelques différences, observées à des moments bien précis, pourraient être le résultat d'effets maternels et liées à des processus épigénétiques ou à des effets génétiques maternels additifs. L'ensemble de ces résultats suggère que les embryons d'ombles de fontaine d'élevage puissent avoir une tolérance élevée au stress maternel prénatal.

1.2 ABSTRACT

In teleosts, hormones can be transferred into oocytes during sexual maturation, at concentrations that reflect those found in the plasma of females. Thus, the endocrine status of females during this period could influence the phenotype and viability of offspring. To investigate whether maternal stress in farmed brook charr (*Salvelinus fontinalis*; Laval strain) during sexual maturation may influence phenotypic traits of early developmental stages, offspring of females subjected to one of the four following treatments were incubated and sampled: 1) control, 2) chronic stress induction by weekly emersion, 3) daily feeding with cortisol-enriched feed and 4) eggs produced by control females, but bathed in a cortisol suspension for three hours before fertilization. Results showed that treatments did not have pronounced and prolonged effects on yolk sac volume or fry mortality and on frequencies of malformed and siamesed fry. However, fry from manually stressed females had reduced growth between hatch and exogenous feeding. The early development in eggs produced by manually stressed females was also more rapid until the eyed-stage and then slowed. Eggs produced by cortisol-fed females had lower mortality rates 24 hours after fertilization and at the eyed-stage. We also found a reduction in size at hatching in fry exposed *in ovo* to cortisol, although every other phenotypic traits measured in these fry were similar to those measured in controls. These few differences observed at specific times could be the result of maternal effects and related to epigenetic processes or maternal additive genetic effects. These results suggest that farmed brook charr embryos may have a high tolerance to prenatal maternal stress.

1.3 INTRODUCTION

Stress is an omnipresent aspect of life for all animals, including wild and farmed fish (Eriksen *et al.*, 2013). It is a condition where the homeostasis of an organism is disturbed or threatened by an external or internal stressor (Barton & Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997; Schreck *et al.*, 2001). Drastic changes in the physical environment, intra- or interspecific interactions, and anthropogenic disturbances including aquaculture practices and water pollution are all known to be potential stressors that can elicit a coordinated and universal response to stress in teleost fishes (Barton & Iwama, 1991; Pickering, 1993; Pankhurst & Van der Kraak, 1997; Wendelaar Bonga, 1997). Among the physiological and biological responses that can enable fish to overcome stressful events, activation of the hypothalamic-pituitary-interrenal axis (HPI), which leads to the release of glucocorticoids (cortisol) in the circulatory system, is of major importance (Wendelaar Bonga, 1997; Sapolsky *et al.*, 2000). When the stress is intense and continuous (chronic), the stress response may become detrimental, with cortisol having many negative effects on fish (Barton & Iwama, 1991; Pickering, 1993; Wendelaar Bonga, 1997).

In vertebrates, several studies have demonstrated that maternal stress throughout gestation or after the progeny's birth can have a major impact on the offspring's phenotype. In teleost fishes, the mother's physiological state during gonadal maturation seems to be linked to that of her offspring, with maternal factors such as hormones being deposited in the developing oocytes (Tata, 1986; Lyman-Gingerich & Pelegri, 2007; Traverso *et al.*, 2011) and reflecting levels found in maternal ovaries (McCormick, 1998). In teleost fishes, overexposure to maternally derived cortisol during early embryogenesis has been suggested to be the main cause of the phenotypic variability observed in fry and juveniles produced by stressed mothers (Leatherland *et al.*, 2010). Maternal stress has a significant and mostly negative impact on the survival, viability, and growth of offspring (Campbell *et al.*, 1992, 1994; Barry *et al.*, 1995; Eriksen *et al.*, 2006; 2007; 2013; Mingist *et al.*, 2007). Embryos from different fish species that have been exposed to maternal stress before hatching

generally have reduced yolk sac volumes, slower development, and smaller size at hatching (McCormick, 1998; 2009; Ostrand *et al.*, 2004; Eriksen *et al.*, 2006; 2013).

The presence of a stress in females can alter several aspects of their physiology (Wendelaar Bonga, 1997). Indeed, the release of stress hormones (catecholamines and glucocorticoids) in their circulatory system that results from the activation of the HPI axis has a wide range of effects (Wendelaar Bonga, 1997). It is known that a prolonged or repeated stress can affect crucial metabolic events and endocrine regulation in fish, thereby having general negative effects on energy mobilization, growth, reproductive performance, survival, disease resistance, feeding behaviour, and brain and nervous system functioning in addition to elevating plasma cortisol levels (Maule *et al.*, 1987; Barton & Iwama, 1991; Pickering, 1993; Pankhurst & Van der Kraak, 1997; Wendelaar Bonga, 1997). Thus, it is important to separate the general effects of a maternal stress from the specific effects of elevated levels of cortisol in females, since cortisol may not be the only mediator of these stress effects. In addition, the mechanisms underlying the effects of stress hormones are still far from being fully understood (Leatherland *et al.*, 2010).

To investigate the effects of maternal stress or cortisol on the embryonic development of brook charr (*Salvelinus fontinalis*), we compared the development of progenies produced by non-stressed females and by females that were either manually stressed or cortisol-fed during the weeks preceding ovulation. We also followed the development of eggs produced by non-stressed females that were immersed in a cortisol suspension prior to fertilization so as to focus on the specific effects of elevated cortisol levels in females. Various phenotypic traits, including yolk sac volume, duration of development, mortality, and growth at different developmental stages, were measured to assess these effects. Maternal stress during oogenesis and immersion of eggs in the cortisol suspension before fertilization were expected to decrease egg size, increase mortality rates and frequencies of abnormalities, decrease yolk sac volume, slow development, and/or reduce growth performance of offspring.

1.4 MATERIAL AND METHODS

1.4.1 Experimental design

S. fontinalis of the Laval strain were used as parental stock. For specific information regarding this particular strain, readers are referred to Crespel *et al.* (2011). In early September of 2013, 76 breeders (16 sires and 60 dams) were divided into six indoor 500 L tanks (two per treatment), giving an average of 12 fish per tank and a minimum of two sires per tank. Each tank was supplied with a constant flow (10 L min^{-1}) of dechlorinated freshwater, and natural temperature conditions varied from 12°C (beginning of October) to 7°C (December) during the experimental period. Since the genetic origin of each breeder was known, females were selected among dams to obtain groups of three sisters, and each sister was randomly assigned to one of the three treatments. The treatments were as follows: Treatment 1, chronic stress: each dam was removed from the water for 20 seconds once a week for a total of 10 weeks, starting the first week of October. This emersion stress was based on the method used by Barton *et al.* (1987) on rainbow trout. Physical manipulation frequency was designed to be representative of verification of ovulation in female broodstock on a fishfarm. Treatment 2: females were fed cortisol-enriched feed (1.5 mg of cortisol per kg of fish; $\geq 98\%$ hydrocortisone, Sigma-Aldrich, Ontario, Canada) at a maximum 1% of body mass daily for nine weeks starting the second week of October. Cortisol concentrations were designed to induce a hormonal response expected from breeders experiencing chronic stress (Gamperl *et al.*, 1994). The cortisol concentrations used were chosen based on previous studies done on brown trout (Pickering & Duston, 1983) and rainbow trout (Barton *et al.*, 1987). To incorporate cortisol into the feed, commercial pellets (7.5 mm sinking pellets; Corey Aquafeeds, New Brunswick, Canada) were sprayed with a solution of ethanol and cortisol according to Pickering (1984). Treatments 1 and 2 were repeated for several weeks in an attempt to induce a chronic stress in females. Duration of both treatments was similar to those used by Barton *et al.*, 1987 and Pickering & Duston, 1983. Treatment 3: the reference group was raised using the usual

procedures at the wet lab facility. Each egg batch collected from control dams was divided in half, with the first half kept as control spawn. Eggs from the second half were bathed in a cortisol suspension (500 ng ml^{-1} in 0.9% NaCl) for 3 h before fertilization. The cortisol concentration and experimental approach were based on previous studies done on salmonids (Sloman, 2010: brown trout; Stratholt *et al.*, 1997: coho salmon). All collected egg batches were kept at 4°C in their respective ovarian fluid during this 3 h period. Control and manually stressed females received a feed that had been sprayed with ethanol only during the experimental period.

Spawning took place from mid-November until mid-December 2013. Dams were anaesthetized weekly in MS-222 (0.16 g L^{-1} ; aminobenzoic acid ethyl ester; Sigma-Aldrich, Ontario, Canada) for verification of the ovulation process. When gonad development was completed, blood samples were collected by caudal puncture with ammonium-heparinized syringes and conserved on ice, after which females were weighed and measured, and eggs were stripped. Blood samples were taken within a 4 h period in the morning or afternoon to avoid bias related to circadian cycles (Audet & Claireaux, 1992). Average mass of females was $2.0 \pm 0.5 \text{ kg}$ and average length was $49.2 \pm 3.2 \text{ cm}$. Right before fertilization, random samples of approximately 100 unfertilized eggs were taken from each egg batch obtained from each of the four treatments (eggs immersed in cortisol, control, cortisol-fed, and manually stressed females). Each sample of eggs was quickly frozen in liquid nitrogen and conserved at -80°C for further cortisol content analysis. Fertilization was done using a sire:dam ratio of 1:1 and care was taken not to cross brothers and sisters. Sires from the cortisol-fed tanks were not used for fertilization. Following a hardening period of 3 h, the eggs of each cross were counted, disinfected in a solution of active iodine (100 ppm; West Penetone, Montreal, Canada) for 10 minutes, and transferred into a flow-through incubation system.

1.4.2 Egg and fry rearing

From egg incubation until the end of the experiment, each batch of eggs was kept separate and reared in individual trays. Water temperature followed natural winter conditions and decreased to 4.5°C. Following hatching (February), heaters were placed in each tank and water temperature was increased by 1°C per week until reaching 8°C. Once natural temperature conditions reached 8°C (June), heaters were removed and temperature conditions followed natural spring and summer variations. Fry were exposed to a 12L:12D photoperiod at hatch. Once natural photoperiod conditions reached 12L (March), fry were raised under natural spring and summer photoperiod conditions until the end of the experiment. At our latitude, summer solstice photoperiod is 16L:8D. Fry were fed 5.3% of body mass with commercial hatchery feed for salmonids (0.5 gr Optimum; Corey Aquafeeds, New Brunswick, Canada) from complete exogenous feeding until the end of the experiment.

1.4.3 Measured traits

The average diameter of eggs from all dams was estimated using a Von Bayer trough (Von Bayer, 1910). The relative fecundity of each female was expressed in number of eggs per kg of female mass.

Dead and unfertilized eggs were removed and counted for each egg batch 24 h after fertilization and twice a week from the beginning of incubation. At hatch, non-viable fry were removed and counted. The number of dead fry was monitored until the exogenous feeding stage was well established. The number of degree-days from fertilization until the eyed-stage, hatch, and exogenous feeding was calculated for each egg batch.

Twenty randomly chosen fry from each batch were anaesthetized in an MS-222 solution (0.02 g L⁻¹) at hatch and at the exogenous feeding stage. Fifty randomly chosen juveniles were sampled in early July using the same method described. Standard length (L_s , mm) was measured at each stage of development. At hatch, maximum yolk sac length (L_{ys} ;

mm) and width (W_{ys} ; mm) were measured. Assuming that the yolk sac of brook trout fry is cylindrical, its volume (mm^3) was calculated using the formula

$$\pi * L_{ys} * \left(\frac{W_{ys}}{2}\right)^2.$$

General growth rate of offspring at hatching, at exogenous feeding, and at the juvenile stage was calculated by dividing the measured length by the number of degree-days required to reach the particular stage.

1.4.4 Cortisol extraction and measurement in unfertilized eggs

Cortisol extraction and measurement were performed on pools of unfertilized eggs samples from 12 different egg batches ($n = 12$) by Cortez Ghio (2015). For more specific information regarding the technical procedures, readers are referred to Cortez Ghio (2015).

1.4.5 Plasma cortisol measurement in females

For each of the 21 blood sample collected over the spawning period, plasma was separated by centrifugation at room temperature (7200 g; 3 min), and then frozen (-20°C). The plasma sample from one cortisol-fed female was too small, so only 20 samples were analyzed: six from cortisol-fed females, six from controls, and eight from manually stressed females. Cortisol plasma concentration for each stripped dam was determined in duplicate with a radioimmunoassay kit following the manufacturer's procedure (ImmuChemTM Cortisol ^{125}I kit, MP Biomedicals, LLC, Orangeburg, New York, USA).

1.4.6 Statistical analysis

Data normality and homogeneity of variance for every trait measured were tested with Kolmogorov-Smirnov and Levene tests, respectively (Quinn & Keough, 2002). Data expressed in percentage were arcsin transformed (Quinn & Keough, 2002). Based on

Bartlett (1947), proportions of 0 were replaced by values of $(1/4 n)$ before transformations, where n was the denominator used to compute each percentage data.

To test for differences between egg and fry batches obtained from eggs that had been immersed in cortisol suspension and eggs from control group, t -tests for dependent samples were performed for each trait measured ($n = 5$ for both treatments, with the exception that $n = 3$ per treatment for general growth at the juvenile stage). Normality of differences between pairs was first tested with Kolmogorov-Smirnov tests for every trait measured (Quinn & Keough, 2002).

A full balanced statistical design was only obtained for three groups of three sister dams (manually stressed, cortisol-fed, and control) for different reasons: absence of gonadal maturation (one control female), absence of ovulation (two cortisol-fed females), absence of egg fertilization in three families (due to male or female effect), and mortalities before the experiment began (unknown cause). One-way analysis of variance (ANOVA, treatment as a fixed factor, $n = 3$ per treatment) followed by Tukey honest significant difference (HSD) tests in the presence of significant treatment effect were used to compare data with only one measurement per egg batch (developmental time, % mortality, % non-viable fry) or per dam (relative fecundity, mean egg diameter). Plasma cortisol concentration of females from the three complete groups was tested using a one-way ANOVA with an unbalanced design ($n = 3$ for manually stressed and control treatments and $n = 2$ for cortisol-fed treatment), as the plasma sample from one cortisol-fed female was too small to be analyzed. Yolk sac volume and fry length at hatch were analyzed using one-way nested ANOVA (treatment as a fixed factor and Dam Sisters nested as a random factor; $n = 60$ per treatment). General growth of offspring at the juvenile stage was also tested using a nested ANOVA ($n = 150$ per treatment). Growth performance between hatch and exogenous feeding was tested using an analysis of covariance (ANCOVA; treatment as a fixed factor and fry age in degree-days as a covariate). Both standard length (L_s) and degree-days data were log-transformed to respect the ANCOVA's linearity of data assumption.

To consider all available data (presence or not of sisters in the different experimental groups), treatment effects on measured traits were compared using one-way ANOVA followed by Tukey honest significant difference (HSD) tests in the presence of significant treatment effect ($n = 7, 8, \text{ and } 6$, respectively, for cortisol-fed, manually stressed, and control treatments). Transformations failed to obtain homoscedasticity for developmental time between fertilization and the eyed-stage and for cortisol plasma concentration, so Games & Howell a posteriori tests were used (Sokal & Rohlf, 2012). Growth performance between hatch and exogenous feeding was tested as previously described.

Statistical analyses were performed using STATISTICA version 10.0 for Windows (StatSoft, Tulsa, Oklahoma, USA). Games & Howell post hoc tests were conducted with IBM SPSS Statistics version 20.0.0 (IBM, Markham, Ontario, Canada). A significant level of $\alpha = 0.05$ was used with all statistical tests.

1.5 RESULTS

Two cortisol-fed females had not ovulated at the end of the spawning period. Moreover, plasma cortisol concentrations of females that were part of the three complete groups (unbalanced design for this particular analysis because of a too small plasma sample for one cortisol-fed female) were similar among treatments (Table 1). However, when considering all females, the manually stressed ones ($109.4 \pm 48.3 \text{ ng ml}^{-1}$) had lower plasma cortisol concentrations than control females ($165.0 \pm 15.3 \text{ ng ml}^{-1}$), while plasma cortisol concentrations of cortisol-fed females ($122.9 \pm 44.7 \text{ ng ml}^{-1}$) were not significantly different from those in the control and manually stressed groups ($F_{2,17} = 3.5, P = 0.05$). The relative fecundity of cortisol-fed females from the three complete groups (i.e., the balanced experimental design, with sisters in each experimental group) was lower than for control and manually stressed females (Table 1), but egg diameter was similar among treatments (Table 1). When data from all females are considered, relative fecundity ($F_{2,18} = 0.5, P > 0.05$; mean \pm SD: $1421 \pm 275 \text{ eggs kg}^{-1}$) and egg diameter ($F_{2,18} = 1.4, P > 0.05$; mean \pm SD: $5.0 \pm 0.2 \text{ mm}$) were similar among treatments.

Table 1. Effect of induced chronic stress on plasma cortisol concentration of females, relative fecundity, and mean egg diameter (balanced experimental design for all traits, except for plasma cortisol concentration because of too small plasma sample for one cortisol-fed female). Different letters indicate significant differences. Statistical analyses for plasma cortisol concentration in dams were made on log-transformed data. Data are given as mean \pm SD.

Traits	Cortisol-fed	Manually Stressed	Control	F	P-value
Plasma cortisol concentration (ng ml ⁻¹)	101.8 \pm 1.1	135.8 \pm 65.8	170.9 \pm 10.1	1.5	> 0.05
Relative fecundity (eggs kg ⁻¹)	1182 \pm 113 ^a	1695 \pm 212 ^b	1646 \pm 32 ^b	12.3	< 0.05
Mean egg diameter (mm)	4.9 \pm 0.09	4.9 \pm 0.04	4.9 \pm 0.07	0.5	> 0.05

Cortisol: F_{2,5}; Relative fecundity and Mean egg diameter: F_{2,6}.

For most of the traits measured in offspring, no significant difference was found between progenies from control females whether or not eggs were immersed in cortisol (Table 2). The only exception was that embryos obtained from eggs previously bathed in the cortisol suspension had a reduced size at hatching relative to controls (Table 2). However, this difference in size was not observed in later developmental stages (Table 2). Growth performances at hatching, at exogenous feeding, and at the juvenile stage were similar between control fry and fry from eggs bathed in the cortisol suspension (Table 2). Thus progenies from eggs that had been immersed in the cortisol suspension before fertilization were not considered further.

1.5.1 Results from the three complete groups (sister in each experimental group)

When looking at the three complete groups (balanced experimental design, sisters in each experimental group), egg mortality was similar for all treatments 24 h after fertilization, at the eyed-stage, and at hatching (Table 3). Fry from the manually stressed groups had higher mortality between hatching and exogenous feeding (Table 3) compared to the cortisol-fed treatment; however, fry from these two treatments had mortality rates similar to those of the control group. The percentage of non-viable fry (malformed or siamesed fry) at hatch was similar among treatments (Table 3). No difference in yolk sac volume or fry length at hatch was observed among treatments (Table 3). Fry from the manually stressed group attained the exogenous feeding stage significantly more slowly than offspring from the control group, but otherwise no difference was observed during embryonic development (Table 3). Offspring from the manually stressed groups had lower growth performance between hatch and exogenous feeding compared to the control and cortisol-fed groups (slopes were significantly different among treatments, $F_{2,354} = 10.5$, $P < 0.05$; Figure 2). However, no difference in general growth was observed at the juvenile stage among treatments (Table 3).

Table 2. Effect of cortisol on early developmental stages of brook charr. Eggs were bathed in a cortisol suspension (500 ng ml⁻¹ in 0.9% NaCl) or in ovarian fluid (controls). Different letters indicate significant differences. Statistical analyses for traits expressed in percentage were made on arcsine-transformed data. Data are given as means \pm SD. F: fertilization, ES: eyed-stage, H: hatch, EF: exogenous feeding, JS: juvenile stage, dd: degree-days, df: degree of freedom.

Traits	Eggs in cortisol	Control eggs	df	<i>t</i> -value	P-value
% egg mortality 24h	11.5 \pm 7.1	9.8 \pm 7.4	4	0.446	> 0.05
% egg mortality ES	23.4 \pm 8.7	19.2 \pm 5.9	4	0.716	> 0.05
% egg mortality H	6.1 \pm 2.8	8.5 \pm 5.0	4	-0.773	> 0.05
% fry mortality H to EF	2.2 \pm 0.9	1.5 \pm 0.6	4	1.486	> 0.05
% malformed fry	1.4 \pm 0.8	0.8 \pm 0.4	4	1.700	> 0.05
% siamesed fry	0.3 \pm 0.3	0.4 \pm 0.5	4	0.663	> 0.05
Yolk sac volume (mm ³)	94.7 \pm 18.4	96.5 \pm 20.3	4	-1.470	> 0.05
Degree-days F to ES	263.8 \pm 19.3	266.9 \pm 16.7	4	-1.000	> 0.05
Degree-days F to H	456.4 \pm 25.3	466.9 \pm 34.2	4	-1.690	> 0.05
Degree-days F to EF	795.5 \pm 26.8	784.0 \pm 13.3	4	1.312	> 0.05
Fry length H (mm)	16.3 \pm 1.2 ^a	16.8 \pm 1.3 ^b	4	-4.103	< 0.05
Fry length EF (mm)	25.6 \pm 1.5	25.7 \pm 1.3	4	-0.245	> 0.05
Fry length JS (cm)	3.9 \pm 0.05	3.9 \pm 0.02	2	0.119	> 0.05

Table 2. Continued

Traits	Eggs in cortisol	Non manipulated eggs	df	t-value	P-value
Growth H (mm dd ⁻¹)	0.036 ± 0.001	0.036 ± 0.001	4	-1.323	> 0.05
Growth EF (mm dd ⁻¹)	0.032 ± 0.002	0.033 ± 0.001	4	-0.989	> 0.05
Growth JS (mm dd ⁻¹)	0.027 ± 0.001	0.027 ± 0.001	2	0.093	>0.05

Table 3. Effect of induced chronic stress in female brook charr on early developmental stages of progeny (balanced experimental design). Different letters indicate significant differences. Statistical analyses for traits expressed in percentage were made on arcsine-transformed data. Data are given as means \pm SD. F: fertilization, ES: eyed-stage, H: hatch, EF: exogenous feeding, JS: juvenile stage, dd: degree-days.

Traits	Cortisol-fed	Manually Stressed	Control	F _{2,6}	P-value
% egg mortality 24h	3.0 \pm 0.2	5.5 \pm 2.2	5.0 \pm 1.8	2.2	> 0.05
% egg mortality ES	15.1 \pm 10.6	13.5 \pm 5.8	16.0 \pm 4.0	0.1	> 0.05
% egg mortality H	4.6 \pm 3.6	13.1 \pm 4.1	8.7 \pm 5.8	2.6	> 0.05
% fry mortality H to EF	1.2 \pm 0.7 ^a	3.2 \pm 0.7 ^b	1.8 \pm 0.5 ^{ab}	6.4	< 0.05
% malformed fry	0.4 \pm 0.3	1.0 \pm 0.2	0.9 \pm 0.4	3.3	> 0.05
% siamesed fry	0.3 \pm 0.3	0.6 \pm 0.3	0.2 \pm 0.1	2.3	> 0.05
Yolk sac volume (mm ³)	85.1 \pm 14.7	85.2 \pm 9.2	84.7 \pm 12.3	0.002	> 0.05
Degree-days F to ES	258.2 \pm 4.5	241.2 \pm 3.7	269.9 \pm 22.8	3.4	> 0.05
Degree-days F to H	451.2 \pm 36.6	462.0 \pm 38.6	455.4 \pm 36.3	0.06	> 0.05
Degree-days F to EF	795.0 \pm 13.1 ^{ab}	823.9 \pm 21.1 ^b	781.0 \pm 14.6 ^a	5.2	< 0.05
Fry length H (mm)	15.4 \pm 1.2	16.1 \pm 1.1	16.2 \pm 1.1	0.4	> 0.05
Growth JS (mm dd ⁻¹)	0.027 \pm 0.003	0.028 \pm 0.003	0.027 \pm 0.003	0.2	> 0.05

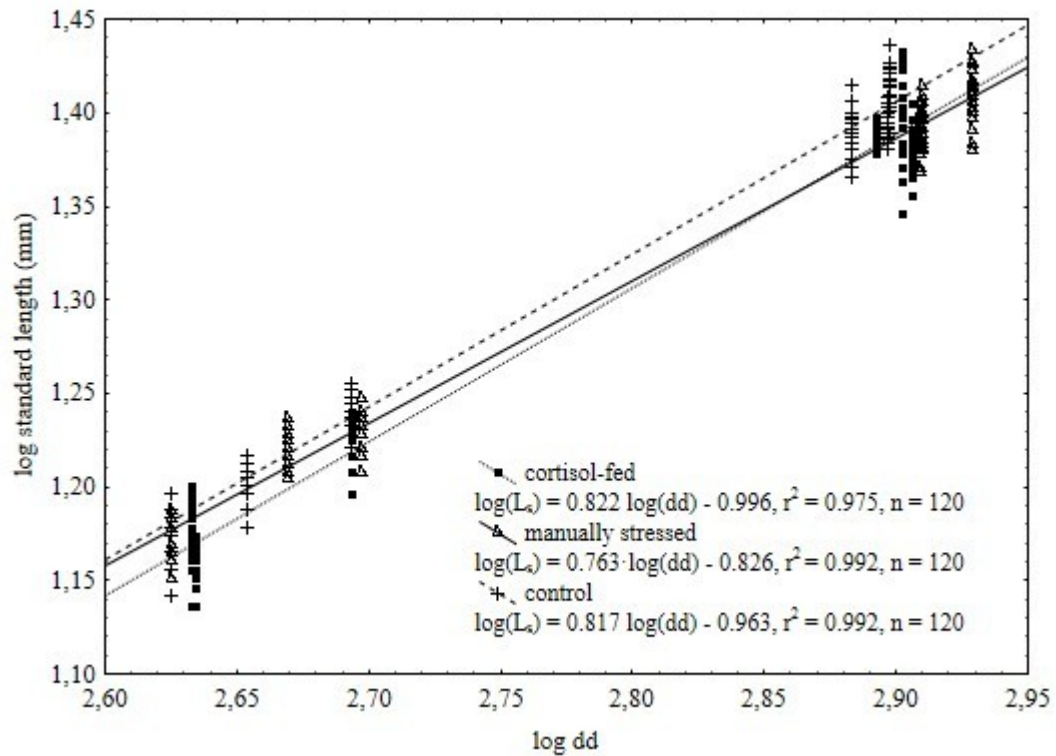


Figure 2. Effect of induced chronic stress in female brook charr on progeny growth between hatch and exogenous feeding (balanced experimental design). (●) cortisol-fed, (Δ) manually stressed, (+) control offspring; dd: degree-days. Linear regressions were between log-transformed standard length (L_s ; mm) and fry age (log-transformed dd).

1.5.1 Results from all data available (unbalanced design)

When all egg batches were considered (presence or not of sisters in the three different experimental groups), significant differences were not always the same as noted above. Higher mortality was observed 24 h after fertilization and at the eyed-stage (Table 4) in eggs from the control females compared with the cortisol-fed group. Furthermore, offspring from manually stressed females attained the eyed-stage more rapidly than those from the control and cortisol-fed groups, but no other difference was observed during embryonic development among treatments (Table 4). Moreover, offspring had similar growth performances between hatch and exogenous feeding regardless of the treatment they were from ($F_{2,834} = 2.5$, $P > 0.05$; Figure 3). Otherwise, no difference in yolk sac volume, percentage of non-viable fry, or fry length at hatch was observed among treatments (Table 4).

1.6 DISCUSSION

Maternal stress during oogenesis or immersion of eggs in the cortisol suspension before fertilization were expected to decrease egg size, increase mortality rates and frequencies of abnormalities, decrease yolk sac volume, slow down development, and reduce growth performance of offspring. Our results did not provide evidence that cortisol or chronic stress in females altered early development in brook charr.

Unfertilized eggs produced by non-stressed females were immersed in a cortisol suspension to isolate the effects of elevated cortisol levels in females from other maternal stress effects. As demonstrated by Cortez Ghio (2015), immersion of eggs in a cortisol suspension increased the egg cortisol content (204.9 ± 29.0 ng ml⁻¹ [mean \pm S.E.], which corresponds to about 25.6 ± 3.6 ng oocyte⁻¹). Egg cortisol concentration in this study was higher than those obtained in other fish studies where eggs were immersed in a cortisol suspension (Stratholt *et al.*, 1997: coho salmon, Li *et al.*, 2010: rainbow trout) but lower than concentrations reported by Sloman (2010) for brown trout.

Table 4. Effect of induced chronic stress in female brook charr on early developmental stages of progeny (unbalanced experimental design). Different letters indicate significant differences. Statistical analyses for traits expressed in percentage were made on arcsine-transformed data. Data are given as means \pm SD. F: fertilization, ES: eyed-stage, H: hatch, EF: exogenous feeding.

Traits	Cortisol-fed	Manually Stressed	Control	F _{2,18}	P-value
% egg mortality 24h	3.5 \pm 3.2 ^a	4.4 \pm 2.7 ^{ab}	10.6 \pm 6.9 ^b	4.8	< 0.05
% egg mortality ES	11.9 \pm 7.3 ^a	15.4 \pm 4.3 ^{ab}	20.4 \pm 6.0 ^b	3.6	< 0.05
% egg mortality H	6.6 \pm 4.4	10.3 \pm 4.7	8.5 \pm 4.5	1.3	> 0.05
% fry mortality H to EF	1.6 \pm 1.0 ^a	3.5 \pm 2.0 ^b	1.6 \pm 0.6 ^{ab}	5.1	< 0.05
% malformed fry	0.5 \pm 0.3	1.1 \pm 1.1	0.7 \pm 0.4	0.9	> 0.05
% siamesed fry	0.3 \pm 0.2	0.7 \pm 0.9	0.7 \pm 0.9	0.5	> 0.05
Yolk sac volume (mm ³)	88.4 \pm 16.2	92.8 \pm 12.6	95.7 \pm 18.2	0.4	> 0.05
Degree-days F to ES	261.1 \pm 5.2 ^b	247.7 \pm 11.9 ^a	268.6 \pm 15.5 ^b	6.1	< 0.05
Degree-days F to H	448.5 \pm 31.6	446.3 \pm 28.0	469.5 \pm 31.3	1.2	> 0.05
Degree-days F to EF	793.6 \pm 27.8	794.8 \pm 30.8	776.7 \pm 21.4	0.9	> 0.05
Fry length H (mm)	15.5 \pm 1.2	15.8 \pm 1.0	17.0 \pm 1.2	3.3	> 0.05

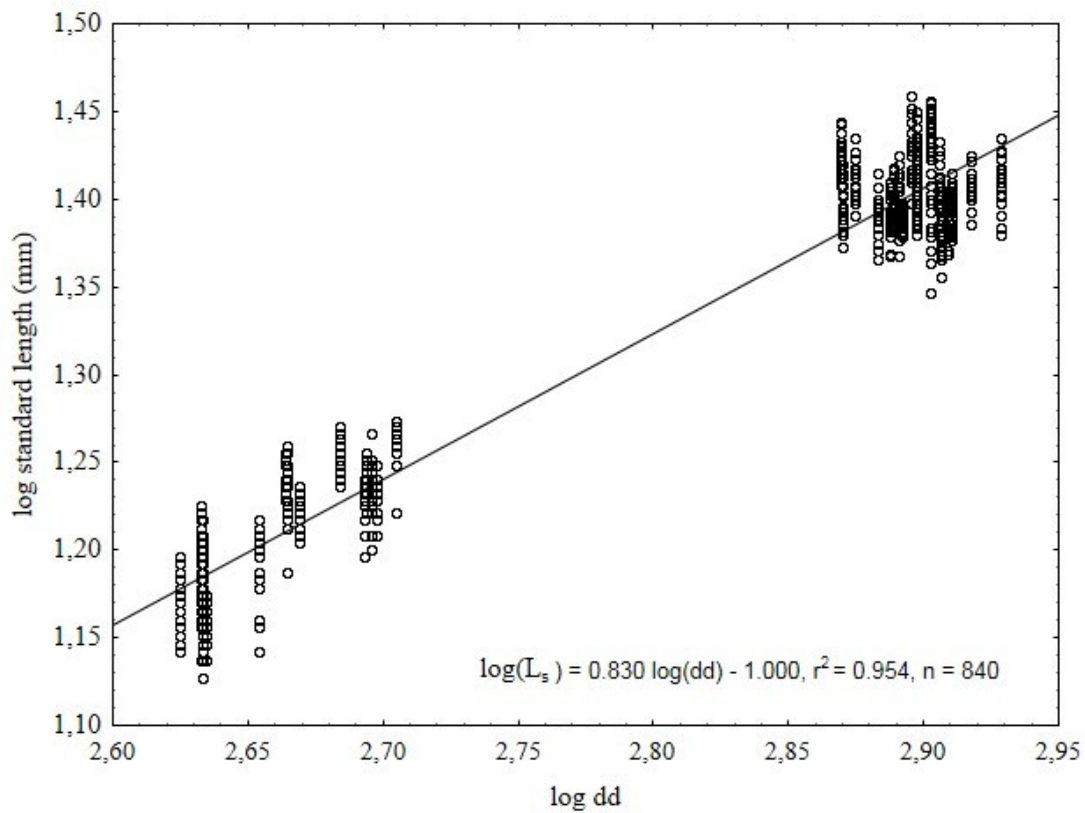


Figure 3. Effect of induced chronic stress in female brook charr on progeny growth between hatch and exogenous feeding (unbalanced experimental design). (●) cortisol-fed, (Δ) manually stressed, (+) control offspring; dd: degree-days. Linear regressions were between log-transformed standard length (L_s ; mm) and fry age (log-transformed dd).

In contrast to our expectations, the high cortisol concentration in non-fertilized eggs had no effect on most offspring characteristics. Indeed, no differences in yolk sac volume, time of development, egg and fry mortality, percent non-viable fry, or growth performance were observed in offspring from cortisol-treated eggs compared to controls from the same mother. The only exception was that embryos from eggs that had been immersed in the cortisol suspension were smaller at hatch than controls. In a similar context, it was demonstrated that offspring of coho salmon immersed in cortisol as eggs showed no difference in time to hatch, yolk sac to body mass ratio at hatch, percent mortality, or growth compared to controls (Stratholt *et al.*, 1997). It has also been observed that brown trout offspring from cortisol-treated eggs displayed a higher metabolism and were more aggressive than controls (Sloman, 2010). Significant changes in the expression of some key growth-related genes were also observed in rainbow trout embryos that had been exposed to cortisol as eggs (Li *et al.*, 2010). These three studies also noted that cortisol levels tended to be rapidly depleted from eggs during early embryogenesis. Indeed, cortisol levels have often been observed to drop as rapidly as 24 h post fertilization in eggs and reach a minimum around hatching in several fish species (De Jesus & Hirano, 1992: chum salmon; Hwang *et al.*, 1992: Mozambique tilapia; Auperin & Geslin, 2008: rainbow trout; Aslop & Vijayan, 2008: zebrafish), which illustrates that maternally derived steroids can be metabolized by fish embryos during their early development (Yeoh *et al.*, 1996a, 1996b). In rainbow trout embryos, Li *et al.* (2012) reported that, to a certain extent, cortisol of maternal origin could be transformed into cortisone, a steroid that have a lower biological activity, or into steroid sulphates. Based on our results, we suggest that brook charr embryos had the capacity to metabolize cortisol during early embryogenesis and thereby protect themselves from prolonged overexposure to glucocorticoids and the subsequent detrimental effects they could have.

Maternal stress and elevated maternally derived egg cortisol concentrations have been shown to alter embryonic development and embryo viability, especially when severe stress occurs during vitellogenesis with a concomitant reduction in vitellogenin synthesis (Leatherland *et al.*, 2010). In our study, early development in eggs produced by manually

stressed females was more rapid up to the eyed-stage and then slowed. Fry from manually stressed females also had reduced growth between hatch and exogenous feeding. Eggs produced by cortisol-fed females had lower mortality rates 24 h after fertilization and at the eyed-stage. Overall, only minor effects were observed considering the whole process of embryonic development. However, exposure of cultured rainbow trout to acute repeated emersion stress for nine months prior to spawning or to two episodes of two weeks' confinement stress resulted in reduced egg size and lower survival rates in progeny from stressed females (Campbell *et al.*, 1992; 1994). Lower initial survival rates, reduced embryo fork length and yolk-sac volume, slower yolk absorption, reduced body mass in juveniles, and higher incidence of malformations in adults were observed in offspring from cortisol-implanted Atlantic salmon females one week before stripping (Eriksen *et al.*, 2006; 2013). It has also been reported that stressed rainbow trout and orange damselfish females often produced smaller embryos compared to controls (Contreras-Sánchez *et al.*, 1998; McCormick, 1998; 2009). In contrast, other studies have failed to demonstrate negative maternal stress effects on offspring growth, hatching success, or survival in different fish species (Ayson, 1989: goldlined spinefoot; Small, 2004: channel catfish; Tierney *et al.*, 2009: sockeye salmon). Our results are difficult to compare with those from the literature on maternal stress effects because no other study used the same species and similar treatments. Indeed, the nature and duration of stress, the moment when a stress is applied, the physiological status or age of individuals, their social status, the season, the fish species and strains used in the experiment may all affect the intensity of stress response in fish (McDonald *et al.*, 1993; Pottinger & Moran, 1993; Wendelaar Bonga, 1997; Schreck *et al.*, 2001; Leatherland *et al.*, 2010). Differences among conclusions of different studies are then expected and results should be interpreted considering specific contexts that apply. Negative results are then not surprising given the variety of effects (or absence of effects) associated with maternal stress reported in the literature.

In contrast to what was expected, we found that cortisol plasma concentrations in manually stressed and cortisol-fed females at stripping were not higher than concentrations found in non-stressed females. However, plasma cortisol concentrations measured in

females were elevated regardless of the treatment, especially when compared with cortisol levels induced by acute 4 h transport stress in the same strain of *S. fontinalis* ($47.06 \pm 4.60 \text{ ng ml}^{-1}$; [mean \pm S.E.]; Crespel *et al.*, 2011). Elevated plasma cortisol levels in females are usually considered to be a good indicator of stress in fishes (Barton & Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997). Moreover, it has been reported that plasma cortisol concentrations tend to be low in adult *O. mykiss* females prior to ovulation but are elevated during the immediate post-ovulation period (Bry, 1985). Considering that a similar pattern may be present in *S. fontinalis*, it is therefore difficult to discriminate whether high cortisol levels measured during the post-ovulation period in dams are related to ovulation processes, to prior chronic stress, or to cortisol-feeding treatments. Still, it is important to note that ovulation in two females from the cortisol-fed treatment was completely inhibited and that cortisol-fed females had a lower relative fecundity than controls. These results suggest that stress impaired the reproductive success of females to some extent. On the other hand, egg cortisol concentrations in both manually stressed and cortisol-fed females were found to be similar to those measured in eggs from control females (Cortez Ghio, 2015), which is far lower than the concentration induced when bathing eggs in the cortisol suspension. Such low levels of cortisol in eggs were comparable to plasma cortisol concentrations reported in non-stressed *S. fontinalis* dams (less than 10 ng ml^{-1} ; Crespel *et al.*, 2011).

Three hypotheses might explain the lack of elevated levels of cortisol in eggs produced by manually stressed and cortisol-fed females. 1) Neither stress treatment was severe enough to induce sustained and cumulative plasma cortisol elevations in stressed females. If only brief and transient elevations of cortisol occurred, the brevity of the cortisol increase after each stressful event might have limited the cortisol accumulation in eggs (Schreck *et al.*, 2001). 2) A certain degree of acclimation may have occurred in females, so that the stress response triggered by handling and cortisol feeding diminished through time. Indeed, Pickering & Pottinger (1989) reported that an acclimation, defined as the return to pre-stress levels of plasma cortisol concentrations, occurred as soon as 4 weeks after *O. mykiss* were subjected to prolonged confinement plus repeated blood sampling. 3) Cortisol released by stressed females may not have been deposited in oocytes. In *O. mykiss*, it was

suggested that ovarian follicles may play a role in limiting the exposure of oocytes to a maternal steroid by metabolizing cortisol into cortisone, a less biologically potent glucocorticoid, and by forming steroid sulphates (Li *et al.*, 2012).

In the absence of increased egg cortisol content, could small but significant differences in growth performance, egg mortality rates, and time of development in embryos produced by stressed mothers result from maternal effects? Maternal effects are by definition trans-generational, which implies that the phenotype of the parents as well as the conditions experienced by them can influence the phenotype of their offspring (Jonsson & Jonsson, 2014). Such effects could be due to epigenetic mechanisms, which are heritable modifications of the genome and changes in gene expression and function that do not involve any changes in the DNA sequence (Angers *et al.*, 2010). For example, despite not directly exploring epigenetic processes in embryos, Kleppe *et al.* (2013) demonstrated that progeny transcriptome could be affected by a maternal stress and elevated levels of cortisol in Atlantic cod (*Gadus morhua*) females. Indeed, numerous genes related to cytogenesis were differentially expressed in embryos coming from cortisol-implanted females compared to embryos from non-stressed females (Kleppe *et al.*, 2013). To test if epigenetic mechanisms occurred in our study and could explain the differences found in embryos, it would have been interesting to look for epigenetic markers such as DNA methylation and histone modifications in the genome of those embryos. Moreover, we cannot exclude that these small differences might reflect different genetic contributions to phenotypes by females. Perry *et al.* (2004) showed pronounced additive maternal genetic effects of anadromous *S. fontinalis* dams on some pre-resorption yolk sac traits, such as length and yolk sac volume. However, it should be kept in mind that we compared groups of sisters to reduce genetic variability between treatments.

We found no significant difference in growth at the juvenile stage among offspring coming from the different treatments. Podolsky & Moran (2006) described three different scenarios of carryover effects from prior experience that can have long-term consequences on the life-history traits of larval fishes: 1) persistence, which is when differences observed

during embryonic development persist through larval development without being amplified or diminished, 2) amplification, which is when differences observed during embryonic development persist and are magnified during subsequent development, and 3) compensation, which is when initial differences observed during embryonic development are diminished through larval development, when some process during this stage is able to compensate for the initial differences. In our case, this last scenario seems to have occurred since embryos were able to make up the difference in growth during development, especially after exogenous feeding.

In conclusion, high cortisol content in eggs or exposure of females to conditions likely to increase their plasma cortisol concentration did not affect fry phenotypes, suggesting a high tolerance of *S. fontinalis* embryos to maternal stress conditions. This study brings new insight on the potential effects of prenatal maternal stress on developmental traits of farmed *S. fontinalis* embryos and fry. The maximization of fitness remains one of the main objectives in the fish-farming industry.

CHAPITRE 2

DISCUSSION GÉNÉRALE

Cette étude avait pour objet d'examiner les effets du stress chez des femelles ombles de fontaine d'élevage (souche Laval) sur le développement embryonnaire de la progéniture. L'hypothèse émise prévoyait une diminution de la taille des œufs, du volume du sac vitellin, de la vitesse de développement et de la croissance ainsi qu'une augmentation de la mortalité et des fréquences de malformations chez la progéniture provenant de femelles exposées à des conditions susceptibles d'augmenter leur niveau de stress durant la gamétogenèse, mais également chez la progéniture provenant de femelles non stressées dont les œufs avaient été exposés *in ovo* au cortisol.

Les résultats obtenus vont à l'encontre de l'hypothèse de départ, puisqu'aucune modification majeure du développement embryonnaire n'a été mesurée chez les embryons d'ombles de fontaine exposés au cortisol *in ovo*, malgré les concentrations élevées de cortisol dans les œufs, ou encore chez les embryons provenant de mères soumises à des conditions stressantes. Au chapitre 1, les résultats de la présente étude ont été comparés avec les données déjà disponibles et discutés à la lumière des connaissances actuelles, ce pourquoi nous ne reviendrons pas sur cet aspect. Néanmoins, les résultats suggèrent que les embryons d'ombles de fontaine pourraient être plutôt tolérants au stress maternel et à des concentrations élevées de cortisol. D'ailleurs, ces résultats vont dans le même sens que ceux obtenus en parallèle par Cortez Ghio (2015), qui n'a pas observé d'impact du stress maternel ou d'une exposition *in ovo* au cortisol sur le comportement ainsi que les capacités cognitives et d'apprentissage de la progéniture provenant des mêmes femelles que celles utilisées dans la présente étude.

Il ne faut cependant pas oublier que d'autres hormones ou facteurs maternels pourraient possiblement agir en synergie avec le cortisol, lorsque des effets néfastes sont trouvés. Leatherland *et al.* (2010) ont d'ailleurs suggéré que des effets délétères sur les embryons sont souvent observés lorsque des conditions sévères de stress sont appliquées et qu'une réduction subséquente de la synthèse de vitellogénine est observée en plus des élévations de cortisol. D'autres études s'avèrent donc nécessaires chez les poissons pour approfondir les mécanismes moléculaires par lesquels le cortisol agit possiblement sur le développement embryonnaire.

Par ailleurs, nos résultats peuvent être difficiles à interpréter et à comparer avec les autres données publiées puisqu'aucune autre étude ne semble avoir utilisé à la fois la même espèce et des traitements similaires aux nôtres. Il est reconnu que la nature et la durée du stress, le moment où le stress est appliqué, l'état physiologique ou l'âge des individus, le statut social et la saison sont tous des facteurs qui peuvent potentiellement influencer la réponse au stress des organismes (Schreck *et al.*, 2001; Leatherland *et al.*, 2010; Wendelaar Bonga, 1997). Les comparaisons des résultats des études portant sur les effets du stress sont d'autant plus complexes que des variations considérables dans l'intensité de la réponse ont été observées entre des espèces de poissons et entre les souches à l'intérieur d'une même espèce (McDonald *et al.*, 1993: omble de fontaine et touladi; Cnaani *et al.*, 2004: tilapia; Iwama *et al.*, 1992: saumon coho; Pottinger & Moran, 1993: truite arc-en-ciel). Par exemple, il a été démontré que les ombles de fontaine sont moins sensibles à un stress de transport et de confinement en filet comparativement aux touladis, ces derniers ayant une perte d'ions 10 fois plus importante lors du transport (McDonald *et al.*, 1993). Chez l'omble de fontaine, Crespel *et al.* (2011) ont rapporté que les concentrations de cortisol plasmatique après un stress de transport de 4 heures étaient plus élevées chez la souche Laval que chez la souche Rupert, indiquant que la première souche semblait plus sensible à un stress aigu comparativement à la deuxième. Ainsi, les résultats associés à des circonstances précises et un ensemble de facteurs donnés peuvent ne pas s'appliquer ailleurs lorsque même un seul de ces facteurs est légèrement modifié et que l'ensemble de ces circonstances n'est plus tout à fait identique.

Il est également probable que les femelles utilisées dans cette étude, soit des poissons d'élevage de quatrième génération, aient été moins sensibles au stress dès le départ, ce qui pourrait potentiellement expliquer l'absence d'effets majeurs sur les embryons produits par des femelles soumises à un stress. Woodward & Strange (1987) ont observé que la réponse au stress de truites arc-en-ciel sauvages tendait à être plus extrême que celle de truites arc-en-ciel d'élevage lorsque ces poissons étaient soumis à un stress de confinement ou d'électrochoc. En effet, il est désormais reconnu que la domestication pousse généralement les populations de poissons à travers une sélection étroite pour une faible sensibilité au stress (Pankhurst, 1998). D'ailleurs, les niveaux basaux de cortisol mesurés chez les animaux en élevage à la station aquicole sont habituellement très faibles, tel que démontré par Crespel *et al.* (2011) et Audet & Claireaux (1992) pour différentes souches d'ombles de fontaine. Crespel *et al.* (2011) ont de plus démontré que les niveaux primaires et secondaires de la réponse au stress, notamment la régulation de cortisol et de glucose plasmatique, étaient des traits fortement héréditaires chez cette espèce (respectivement $h^2 = 0,60 \pm 0,20$ et $h^2 = 0,61 \pm 0,20$). De leur côté, Sauvage *et al.* (2012) ont identifié des loci de caractères quantitatifs (QTL) liés aux niveaux de cortisol plasmatique chez l'omble de fontaine, confirmant que la réponse au stress était sous fort contrôle génétique. Ces résultats font en sorte qu'il est d'autant plus probable que la domestication puisse avoir mené, jusqu'à un certain degré, à une plus faible sensibilité au stress des femelles utilisées dans la présente étude. Le fait que celles-ci étaient âgées pourrait également avoir contribué à leur plus faible sensibilité au stress, en raison du fait que ces animaux étaient possiblement habitués à l'ensemble des dérangements liés aux manipulations d'élevage depuis déjà plusieurs années.

Les concentrations de cortisol retrouvées dans les œufs de mères stressées (via émergence ou l'alimentation) étant beaucoup plus faibles que celles retrouvées dans les œufs baignés dans le cortisol et similaires à celles retrouvées dans les œufs provenant de femelles contrôles (Cortez Ghio, 2015), il est possible que les femelles se soient acclimatées à nos traitements de stress chronique au cours de la période expérimentale. En effet, une exposition répétée à des facteurs de stress peut désensibiliser les poissons, de

façon à atténuer les réponses neuroendocrines et métaboliques qui seront mises en place suite à des expositions subséquentes à un stress (Reid *et al.*, 1998). Par exemple, après avoir soumis des juvéniles de truite arc-en-ciel à un stress de manipulation quotidiennement pendant une période de 10 semaines, Barton *et al.* (1987) ont observé que les augmentations de cortisol plasmatique chez ces juvéniles suite à une exposition à un stress aigu étaient beaucoup plus faibles que chez les juvéniles qui n'avaient jamais été stressés auparavant. Ainsi, lorsque le stress imposé aux organismes n'est pas extrêmement sévère mais qu'il est répété, les processus physiologiques mis en place dans les organismes tendent généralement à compenser pour la présence de ce stress (Schreck, 1981). Dans ces conditions, les caractéristiques chimiques du sang tendent à retourner à des niveaux comparables à ceux mesurés avant l'imposition d'un stress (Barton, 2002). Des variations dans la fréquence des traitements de stress manuel appliqués au cours de la période expérimentale combinées à une augmentation de la fréquence vers la fin de la période de maturation sexuelle, tel que réalisé par Campbell *et al.* (1992), auraient peut-être permis de réduire les risques qu'une acclimatation potentielle se produise chez nos femelles, si acclimatation il y a eu.

De façon générale, l'augmentation des concentrations de cortisol plasmatique est un bon indicateur de stress chez les poissons (Barton & Iwama, 1991; Wendelaar Bonga 1997). Cependant, une élévation indépendante du stress des concentrations de cortisol plasmatique a été rapportée par Bry (1985) chez la truite arc-en-ciel pendant la période post-ovulatoire. Chez la truite brune, une élévation marquée des niveaux de cortisol plasmatique a également été observée chez des femelles matures qui avaient ovulé, comparativement à celles qui n'avaient pas ovulé (Pickering & Christie, 1981). Dans la mesure où nous avons supposé qu'une élévation similaire de cortisol puisse être présente chez l'omble de fontaine à l'ovulation et immédiatement après celle-ci, l'unique prélèvement sanguin effectué lors du frai (et donc après qu'il y ait eu ovulation) chez nos femelles ne nous permet pas de distinguer l'effet de nos traitements et de l'ovulation. De faire des prélèvements sanguins qui se seraient étendus sur l'ensemble de la période expérimentale aurait pu nous permettre d'avoir un meilleur portrait des effets de nos

traitements de stress sur les femelles, ce qui aurait facilité l'interprétation des résultats obtenus et aurait pu infirmer ou confirmer certaines des hypothèses qui ont été avancées pour expliquer les concentrations de cortisol plasmatique similaires retrouvés dans les œufs des femelles stressées et contrôles. Dans le futur, il serait intéressant d'examiner l'évolution du contenu en cortisol, cortisone et stéroïdes sulfatés dans les follicules ovariens et les oocytes non fécondés chez des femelles omble de fontaine, et ce pour différents stades de maturation sexuelle et diverses étapes de la réponse au stress. Cela permettrait d'aller confirmer ou infirmer notre hypothèse selon laquelle les follicules ovariens pourraient avoir limité l'exposition des oocytes au cortisol maternel en le métabolisant en cortisone, qui a une activité biologique moindre, ou en formant des stéroïdes sulfatés. Une étude similaire sur des embryons permettrait également de vérifier si les embryons d'ombles de fontaine sont également capables de métaboliser le cortisol pendant l'embryogenèse.

Au chapitre 1, nous avons proposé que les quelques effets significatifs relevés sur les embryons provenant de femelles stressées puissent d'abord être le résultat d'effets épigénétiques. Il est admis que ces effets peuvent être trans-générationnels, c'est-à-dire que le phénotype de la mère ou l'environnement dans lequel elle se trouve arrivent à influencer le phénotype de la progéniture (Jonsson & Jonsson, 2014). Dans ces circonstances, les séquences d'ADN ne sont pas modifiées, cependant ces effets épigénétiques peuvent causer des altérations dans l'expression de certains gènes et potentiellement engendrer certaines variations au niveau du phénotype (Angers *et al.*, 2010). Par exemple, bien que Kleppe *et al.* (2013) n'aient pas observé d'effets du stress maternel sur le pourcentage de fécondation, de divisions cellulaires asymétriques ou d'éclosion des œufs de morue, ils ont démontré que le transcriptome de la progéniture pouvait être affecté par un stress maternel et des niveaux élevés de cortisol plasmatique chez les femelles. En effet, il a été rapporté que de nombreux gènes, liés entre autres à la cytogénèse, étaient exprimés différemment dans les œufs et embryons de femelles stressées suite à la pose d'implants de cortisol (Kleppe *et al.*, 2013). Dans le même ordre d'idée, Mommer & Bell (2014) ont démontré que plusieurs gènes impliqués dans la formation des neurites ainsi que dans le développement du système visuel et du métabolisme aérobie et anaérobie avaient une expression plus élevée trois jours

après la fécondation chez des embryons d'épinoches à trois épines provenant de mères ayant été exposées à des prédateurs. Ainsi, il demeure probable que le transcriptome des embryons de la présente étude ait été modifié en raison de l'exposition des femelles à un stress maternel, mais que les conséquences de ce stress ne se soient pas nécessairement et directement reflétées sur les traits phénotypiques mesurés. D'un autre côté, il ne peut être exclu que les différences observées chez les embryons provenant de mère stressées soient le reflet de contributions génétiques différentes des femelles au phénotype de leur progéniture, puisque certains traits embryonnaires semblent être sous contrôles d'effets génétiques maternels additifs chez l'omble de fontaine (Perry *et al.*, 2004).

Bien que les résultats ne supportent pas l'hypothèse de départ, ils pourraient indiquer une bonne résistance au stress chez la lignée d'omble de fontaine utilisée, ce qui pourrait s'avérer un avantage non négligeable en conditions d'élevage.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Globalement, il semble que les embryons d'omble de fontaine d'élevage soient assez tolérants au stress maternel, puisqu'aucune modification majeure du développement embryonnaire n'a été observée chez la progéniture provenant de femelles stressées ou d'œufs exposés *in ovo* au cortisol. L'absence d'effet majeur du stress maternel prénatal sur les embryons et alevins va à l'encontre de l'hypothèse de départ qui avait été formulée en fonction des connaissances disponibles dans la littérature.

Une meilleure compréhension des possibles conséquences d'un stress maternel prénatal sur le phénotype des embryons d'ombles de fontaine provenant d'un milieu d'élevage est essentielle, dans la mesure où cette espèce est principalement produite pour le marché de l'ensemencement au Québec. Le succès de ces ensemencements est donc directement lié à une maximisation de la valeur adaptative des alevins produits, qui passe par l'amélioration constante des méthodes d'élevage et le bien-être des animaux utilisés.

Sachant que la réponse au stress varie en fonction de divers facteurs, il serait également important de se pencher sur d'autres types d'agents stressants ou sur l'effet des mêmes facteurs de stress, mais en utilisant d'autres fréquences, durées et intensités d'imposition et de vérifier si les effets sur le phénotype de la progéniture demeurent ou non négatifs.

ANNEXE I

REPRÉSENTATION DE LA PROGÉNITURE OBTENUE ENTRE LA MI-NOVEMBRE ET LA MI-DÉCEMBRE 2013 À PARTIR DES 21 FEMELLES

Groupes	Femelles		Progéniture	
	Famille	Traitement		
1	C23C12	moulée avec cortisol	moulée avec cortisol	
	C23C12	stressée manuellement	stressée manuellement	
2	C3C6	moulée avec cortisol	moulée avec cortisol	
	C3C6	contrôle	contrôle	œufs baignés dans le cortisol
	C3C6	stressée manuellement	stressée manuellement	
3	C28C14	contrôle	contrôle	
	C28C14	stressée manuellement	stressée manuellement	
4	C27C14	stressée manuellement	stressée manuellement	
	C27C14	moulée avec cortisol	moulée avec cortisol	
	C27C14	contrôle	contrôle	œufs baignés dans le cortisol
5	C19C10	moulée avec cortisol	moulée avec cortisol	
	C19C10	contrôle	contrôle	œufs baignés dans le cortisol
	C19C10	stressée manuellement	stressée manuellement	
6	C13C7	stressée manuellement	stressée manuellement	

	C13C7	contrôle	contrôle	œufs baignés dans le cortisol
7	S21S11	moulée avec cortisol	moulée avec cortisol	
	S21S11	contrôle	contrôle	œufs baignés dans le cortisol
8	C15C8	moulée avec cortisol	moulée avec cortisol	
	C15C8	stressée manuellement	stressée manuellement	
9	C4C7	moulée avec cortisol	moulée avec cortisol	
	C4C7	stressée manuellement	stressée manuellement	

Les numéros en gris pâle représentent des groupes complets de trois sœurs.

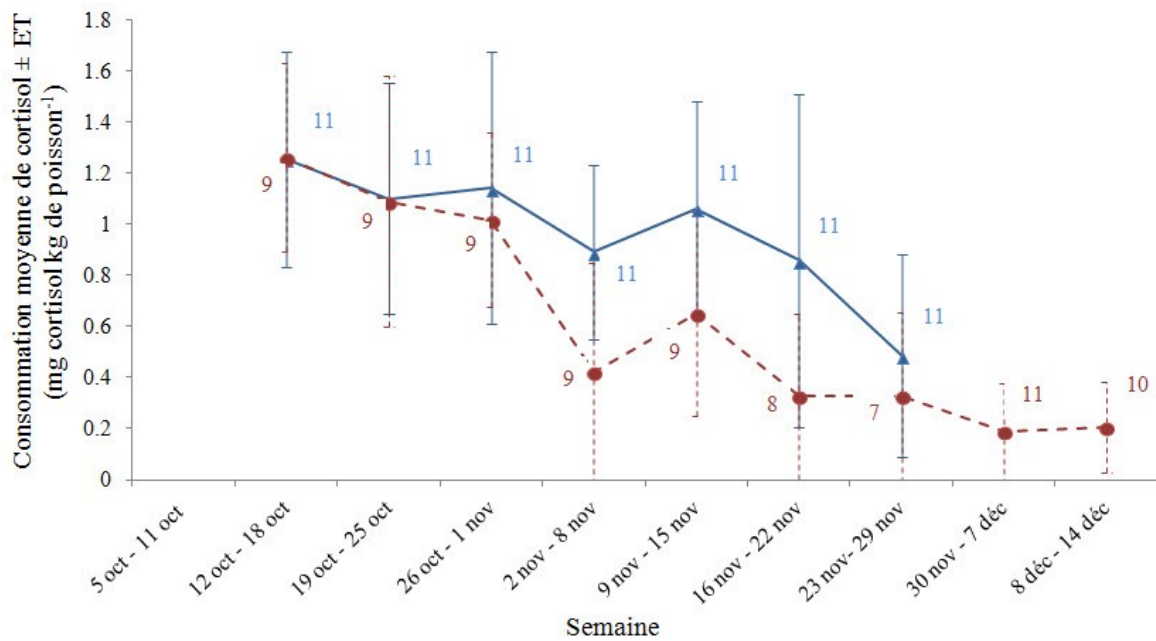
ANNEXE II

DONNÉES RECOLTÉES (A) ET VARIABLES CALCULÉES (B) POUR CHACUNE DES FAMILLES ET CHACUN DES STADES DE DÉVELOPPEMENT

A) <u>Fécondation</u>	<u>Stade oeillé</u>	<u>Éclosion</u>	<u>Résorption du sac vitellin</u>	<u>Stade juvénile</u>
	œufs morts œufs non-fécondés degré-jour	alevins morts œufs morts alevins malformés alevins siamois degré-jour longueur standard diamètre sac vitellin longueur sac vitellin	alevins morts degré-jour longueur standard } 20 alevins	longueur standard } 50 alevins degré-jour
		} 20 alevins		
B)	% mortalité des œufs	% mortalité des œufs % malformations % siamois volume du sac vitellin croissance générale	% mortalité alevins croissance générale	croissance générale
	} temps de développement		} croissance des alevins	
	} temps de développement			
	} temps de développement			

Les données et variables individuelles sont identifiées par des carrés gris pâles, les autres représentent des données et des variables familiales.

ANNEXE III
CONSOMMATION MOYENNE DE CORTISOL DANS LES BASSINS 1 (▲)
ET 2 (●) PENDANT TOUTE LA DURÉE DU TRAITEMENT
(MOYENNE ± É.T.)



Le 30 novembre 2013, les femelles des bassins 1 et 2 qui n'avaient pas encore ovulé ont été regroupées dans le bassin 2. Les nombres associés à chaque point représentent le nombre de femelles présentes dans le bassin et qui n'avaient pas encore ovulé.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Andersson, M. Å., P. I. M. Silva, J. F. Steffensen et E. Höglund, 2011. Effects of maternal stress coping style on offspring characteristics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Hormones and Behavior*. 60: 699-705.
- Angers, B., E. Castonguay et R. Massicotte, 2010. Environmentally induced phenotypes and DNA methylation : how to deal with unpredictable conditions until the next generation and after. *Molecular Ecology*. 19: 1283-1295.
- Aslop, D. et M. M. Vijayan, 2008. Development of the corticosteroid stress axis and receptor expression in zebrafish. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 294: 711-719.
- Aslop, D. et M. M. Vijayan, 2009. Molecular programming of the corticosteroid axis during zebrafish development. *Comparative Biochemistry and Physiology – Part A*. 153: 49-54.
- Audet, C. et G. Claireaux, 1992. Diel and seasonal changes in resting levels of various blood parameters in brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 49: 870-877.
- Auperin, B. et M. Geslin, 2008. Plasma cortisol response to stress in juvenile rainbow trout is influenced by their life history during early development and by egg cortisol content. *General and Comparative Endocrinology*. 158: 234-239.
- Ayson, F. G., 1989. The effects of stress on spawning of brood fish and survival of larvae of the rabbitfish, *Siganus guttatus* (Bloch). *Aquaculture*. 80: 241-246.
- Barry, T. P., J. A. Malison, J. A. Held et J. J. Parrish, 1995. Ontogeny of the cortisol stress response in larval rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology*. 97: 57-65.
- Bartlett, M. S., 1947. The use of transformations. *Biometrics*. 3: 39-52.
- Barton, B. A., 2002. Stress in fishes: A diversity of response with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*. 42: 517-525.

- Barton, B. A., C. B. Schreck et L. D. Barton, 1987. Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress on growth, physiological conditions, and stress responses in juvenile rainbow trout. *Diseases of Aquatic Organisms*. 2:173-185.
- Barton, B. A. et G. K. Iwama, 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases*. 1: 3-26.
- Bernardo, J., 1996. Maternal effects in animal ecology. *American Zoologist*. 36: 83-105.
- Bernier, N. J., G. Flik et P. H. M. Klaren, 2009. Regulation and contribution of the corticotropic, melanotropic and thyrotropic axes to the stress response in fishes. *Fish Physiology*. 28: 235-311.
- Braadstad, B. O., 1998. Effects of prenatal stress on behavior of offspring of laboratory and farmed mammals. *Applied Animal Behaviour Science*. 61: 159-180.
- Bry, C., 1985. Plasma cortisol levels of female rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at the end of the reproductive cycle: Relationship with oocyte stages. *General and Comparative Endocrinology*. 57: 47-52.
- Burton, T., 2002. Maternal influences on offspring size, behaviour and energy metabolism. Thèse de doctorat, Université de Glasgow, Glasgow, 128 p.
- Campbell, P. M., T. G. Pottinger et J. P. Sumpter, 1992. Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout. *Biology of Reproduction*. 47: 1140-1150.
- Campbell, P. M., T. G. Pottinger et J. P. Sumpter, 1994. Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout. *Aquaculture*. 120: 151-169.
- Carragher, J. F., J. P. Sumpter, T. G. Pottinger et A. D. Pickering, 1989. The deleterious effects of cortisol implantation on reproductive function of two species of trout, *Salmo trutta* L. and *Salmo gairdneri* Richardson. *General and Comparative Endocrinology*. 76: 310-321.
- Chambers, R. C. et W. C. Leggett, 1996. Maternal influences on variation in egg sizes in temperate marine fishes. *American Zoologist*. 36: 180-196.
- Charmandari, E., C. Tsigos et G. Chrousos, 2005. Endocrinology of the stress response. *Annual Review of Physiology*. 67: 259-284.

- Cnaani, A., S. Tinman, Y. Avidar, M. Ron et G. Hulata, 2004. Comparative study of biochemical parameters in response to stress in *Oreochromis aureus*, *O. mossambicus* and two strains of *O. niloticus*. *Aquaculture Research*. 35: 1434-1440.
- Contreras-Sánchez, W. M., C. B. Schreck, M. S. Fitzpatrick et C. B. Pereira, 1998. Effects of stress on the reproductive performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biology of Reproduction*. 58: 439-447.
- Cortez Ghio, S., 2015. Caractérisation de l'implication fonctionnelle du cortisol dans la reprogrammation du comportement en réponse au stress maternel prénatal chez l'omble de fontaine, *Salvelinus fontinalis*. Mémoire de maîtrise. Université Laval, Québec, 53 p.
- Crespel, A., L. Bernatchez, D. Garant et C. Audet, 2011. Quantitative genetic analysis of the physiological stress response in three strains of brook charr *Salvelinus fontinalis* and their hybrids. *Journal of Fish Biology*. 79: 2019-2033.
- De Jesus, E. G. et T. Hirano, 1992. Changes in the whole body concentration of cortisol, thyroid hormones, and sex steroids during early development of the chum salmon, *Oncorhynchus keta*. *General and Comparative Endocrinology*. 85: 55-61.
- Eriksen, M. S., M. Bakken, Å. Espmark, B. O. Braadstad et R. Salte, 2006. Prespawning stress in farmed Atlantic salmon *Salmo salar*: Maternal cortisol exposure and hyperthermia during embryonic development affect offspring survival, growth and incidence of malformations. *Journal of Fish Biology*. 69: 114-129.
- Eriksen, M. S., Å. Espmark, B. O. Braadstad, R. Salte et M. Bakken, 2007. Long-term effects of maternal cortisol exposure and mild hyperthermia during embryogeny on survival, growth and morphological anomalies in farmed Atlantic salmon *Salmo salar* offspring. *Journal of Fish Biology*. 70: 462-473.
- Eriksen, M. S., G. Færevik, S. Kittilsen, M. I. McCormick, B. Damsgård, V. A. Braithwaite, B. O. Braadstad et M. Bakken, 2011. Stressed mothers – troubled offspring: A study of behavioural maternal effects in farmed *Salmo salar*. *Journal of Fish Biology*. 79: 575-586.
- Eriksen, M. S., A. Haug, P. A. Torjesen et M. Bakken, 2003. Prenatal exposure to corticosterone impairs embryonic development and increases fluctuating asymmetry in chickens (*Gallus gallus domesticus*). *British Poultry Science*. 44: 690-697.

- Eriksen, M. S., T. T. Poppe, M. McCormick, B. Damsgård, R. Salte, B. O. Braadstad et M. Bakken, 2013. Simulated maternal pre-spawning stress affects offspring's attributes in farmed Atlantic salmon *Salmo salar* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture Research*. 46: 1480-1489.
- Espmark, Å. M., M. S. Eriksen, R. Salte, B. O. Braadstad et M. Bakken, 2008. A note on pre-spawning maternal cortisol exposure in farmed Atlantic salmon and its impact on the behavior of offspring in response to a novel environment. *Applied Animal Behaviour Science*. 110: 404-409.
- Foo, J. T. W. et T. J. Lam, 1993. Retardation of ovarian growth and depression of serum steroid levels in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*, by cortisol implantation. *Aquaculture*. 115: 133-143.
- Gagliano, M. et M. I. McCormick, 2009. Hormonally mediated maternal effects shape offspring survival potential in stressful environments. *Oecologia*. 160: 657-665.
- Gaikwad, S., A. Stewart, P. Hart, K. Wong, V. Piet, J. Cachat et A. V. Kalueff, 2011. Acute stress disrupts performance of zebrafish in the cued and spatial memory tests: The utility of fish models to study stress-memory interplay. *Behavioural Processes*. 87: 224-230.
- Gamperl, A. K., M. M. Vijayan et R. G. Boutilier, 1994. Experimental control of stress hormone levels in fishes: techniques and applications. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 4: 215-255.
- Giesing, E. R., C. D. Suski, R. E. Warner et A. M. Bell, 2011. Female sticklebacks transfer information via eggs: effects of maternal experience with predators on offspring. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 278: 1753-1759.
- Goldstein, D. S. et I. J. Kopin, 2007. Evolution of concepts of stress. *Stress: The International Journal on the Biology of Stress*. 10: 109-120.
- Haddy, J. A. et N. W. Pankhurst, 1999. Stress-induced changes in concentrations of plasma sex steroids in black bream. *Journal of Fish Biology*. 55: 1304-1316.
- Heath, D. D., C. W. Fox et J. W. Heath, 1999. Maternal effects on offspring size: Variation through early development of Chinook salmon. *Evolution*. 53: 1605-1611.

- Henriksen, R., S. Rettenbacher et T. G. G. Groothuis, 2011. Prenatal stress in birds: Pathways, effects, function and perspectives. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 35: 1484-1501.
- Huizink, A. C., E. J. H. Mulder et J. K. Buitelaar, 2004. Prenatal stress and risk for psychopathology: Specific effects or induction of general susceptibility? *Psychological Bulletin*. 130: 115-142.
- Hwang, P.-P., S.-M. Wu, J.-H. Lin et L.-S. Wu, 1992. Cortisol content of eggs and larva of teleosts. *General and Comparative Endocrinology*. 86: 189-196.
- Iwama, G. K., J. C. McGeer et N. J. Bernier, 1992. The effects of stock and rearing history on the stress response in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *ICES Marine Science Symposium*. 194: 67-83.
- Jonsson, B. et N. Jonsson, 2014. Early environment influences later performance in fishes. *Journal of Fish Biology*. 85: 151-188.
- Kahl, M. D., K. M. Jensen, J. J. Korte et G. T. Ankley, 2001. Effects of handling on endocrinology and reproductive performance of the fathead minnow. *Journal of Fish Biology*. 59: 515-523.
- Kleppe, L., Ø. Karlsen, R. B. Edvardsen, B. Norberg, E. Andersson, G. L. Taranger et A. Wargelius, 2013. Cortisol treatment of prespawning female cod affects cytogenesis related factors in eggs and embryos. *General and Comparative Endocrinology*. 189: 84-95.
- Leatherland, J. F., M. Li et S. Barkataki, 2010. Stressors, glucocorticoids and ovarian function in teleosts. *Journal of Fish Biology*. 76: 86-111.
- Li, M., D. P. Bureau, W. A. King et J. F. Leatherland, 2010. The actions of *in ovo* cortisol on egg fertility. Embryo development and the expression of growth-related genes in rainbow trout embryos, and the growth performance of juveniles. *Molecular Reproduction & Development*. 77: 922-931.
- Li, M., H. L. Christie et J. F. Leatherland, 2012. The *in vitro* metabolism of cortisol by ovarian follicles of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Comparison with ovulated oocytes and pre-hatch embryos. *Reproduction*. 144: 713-722.
- Lyman-Gingerich, J. et F. Pelegri, 2007. Maternal factors in fish oogenesis and embryonic development. Dans *The Fish Oocyte: from Basic Studies to Biotechnological Applications* (Babin, P. J., J. Cerdà et E. Lubzens Eds), Springer, Pays-Bas, p. 141-174.

- Maule, A. G., C. B. Schreck et S. L. Kaattari, 1987. Changes in the immune system of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during the parr-to-smolt transformation and after implantation of cortisol. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 44: 161-166.
- McCormick, M. I., 1998. Behaviorally induced maternal stress in a fish influences progeny quality by a hormonal mechanism. *Ecology*. 79: 1873-1883.
- McCormick, M. I., 2006. Mothers matter: crowding leads to stressed mothers and smaller offspring in marine fish. *Ecology*. 87: 1104-1109.
- McCormick, M. I., 2009. Indirect effects of heterospecific interactions on progeny size through maternal stress. *Oikos*, 118: 744-752.
- McDonald, D. G., M. D. Goldstein et C. Mitton, 1993. Responses of hatchery-reared brook trout, lake trout, and splake to transport stress. *Transactions of the American Fisheries Society*. 122: 1127-1138.
- Mingist, M., T. Kitani, N. Koide et H. Ueda, 2007. Relationship between eyed-egg percentage and levels of cortisol and thyroid hormone in masu salmon *Oncorhynchus masou*. *Journal of Fish Biology*. 70: 1045-1056.
- Moberg, G. P., 2000. Biological response to stress: implications for animal welfare. Dans *The Biology of Animal Stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare* (G. P. Moberg et J. A. Mench Eds), CABI publishing, New York, p.1-21.
- Mommer, B. C. et A. M. Bell, 2014. Maternal experience with predation risk influences genome-wide embryonic gene expression in threespined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). *PLOS one*. 9: e98564.
- Morin, R., 2007. Production piscicole au Québec. Document d'information DADD-02. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, 8 p. <http://www.mapaq.gouv.qc.ca/Fr/Peche>.
- Mousseau, T. A. et C. W. Fox, 1998. The adaptative significance of maternal effects. *Trends in Ecology & Evolution*. 13: 403-407.
- Ostrand, K. G., S. J. Cooke et D. H. Wahl, 2004. Effects of stress on largemouth bass reproduction. *North American Journal of Fisheries Management*. 24: 1038-1045.
- Pankhurst, N. W., 1998. Reproduction. Dans *Biology of Farmed Fish* (Black, K. D. et Pickering, A.D. Eds), Sheffield Academic Press, Sheffield, Angleterre, p.1-26.

- Pankhurst, N. W. et M. Dedual, 1994. Effects of capture and recovery of plasma levels of cortisol, lactate and gonadal steroids in a natural population of rainbow trout. *Journal of Fish Biology*. 45: 1013-1025.
- Pankhurst, N. W. et G. Van der Kraak, 1997. Effects of stress on reproduction and growth of fish. Dans *Fish Stress and Health in Aquaculture* (Iwama, G. K., A. D. Pickering, J. Sumpter et C. B. Schreck Eds), Society for Experimental Biology, Seminar Series 62, Cambridge University Press, New York, p.73-93.
- 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*. 58: 2002-2012.
- Pickering, A. D., 1981. Introduction: The concept of biological stress. Dans *Stress and Fish* (A. D. Pickering Ed), Academic Press, New York, p. 1-9.
- Pickering, A. D., 1984. Cortisol-induced lymphocytopenia in brown trout, *Salmo trutta* L. *General and Comparative Endocrinology*. 53: 252-259.
- Pickering, A. D., 1993. Growth and stress in fish production. *Aquaculture*. 111: 51-63.
- Pickering, A. D. et P. Christie, 1981. Changes in the concentrations of plasma cortisol and thyroxine during sexual maturation of the hatchery-reared brown trout, *Salmo trutta* L. *General and Comparative Endocrinology*. 44: 487-496.
- Pickering, A. D. et J. Duston, 1983. Administration of cortisol to brown trout, *Salmo trutta* L., and its effects on the susceptibility to *Saprolegnia* infection and furunculosis. *Journal of Fish Biology*. 23: 163-175.
- Pickering, A. D. et T. G. Pottinger, 1989. Stress response and disease resistance in salmonid fish: Effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiology and Biochemistry*. 7: 253-258.
- Podolsky, R. D. et A. L. Moran, 2006. Integrating function across marine life cycles. *Integrative and Comparative Biology*. 46: 577-586.
- Pottinger, T. G. et T. A. Moran, 1993. Differences in plasma cortisol and cortisone dynamics during stress in two strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fish Biology*. 43: 121-130.
- Quinn, G. P. et M. J. Keough, 2002. *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*, Cambridge University Press, New York, 537 p.

- Reid, S. G., N. J. Bernier et S. F. Perry, 1998. The adrenergic stress response in fish: control of catecholamine storage and release. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*. 120: 1-27.
- Sapolsky, R. M., L. M. Romero et A. U. Munck, 2000. How do glucocorticoids influence stress response? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews*. 21: 55-89.
- Sauvage, C., M. Vagner, N. Derôme, C. Audet et L. Bernatchez, 2012. Coding gene SNP mapping reveals QTL linked to growth and stress response in brook charr (*Salvelinus fontinalis*). *G3: Genes | Genomes | Genetics*. 2: 707-720.
- Schreck, C. B., 1981. Stress and compensation in teleostean fishes: response to social and physical factors. Dans *Stress and Fish* (Pickering, A. D. Ed), Academic Press, London, Canada, p.295-321.
- Schreck, C. B., W. Contreras-Sánchez et M. S. Fitzpatrick, 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture*. 197: 3-24.
- Sloman, K. A., 2010. Exposure of ova to cortisol pre-fertilisation affects subsequent behavior and physiology of brown trout. *Hormones and Behavior*. 58: 433-439.
- Small, B. C., 2004. Effect of dietary cortisol administration on growth and reproductive success of channel catfish. *Journal of Fish Biology*. 64: 589-596.
- Sokal, R. R. et F. J. Rohlf, 2012. *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. 4^e édition, W. H. Freeman and company, New York, États-Unis, 937 p.
- Stratholt, M. L., E. M. Donaldson et N. R. Liley, 1997. Stress induced elevation of plasma cortisol in adult female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), is reflected in egg cortisol content, but does not appear to affect early development. *Aquaculture*. 158: 141-153.
- Tata, J. R., 1986. Coordinate assembly of the developing egg. *BioEssays*. 4: 197-201.
- Tierney, K. B., D. A. Patterson et C. J. Kennedy, 2009. The influence of maternal condition on offspring performance in sockeye salmon *Oncorhynchus nerka*. *Journal of Fish Biology*. 75: 1244-1257.
- Traverso, J. M., A. Fostier et J. Bobe, 2011. Egg transcriptome, the maternal legacy to the embryo. Dans *Aquaculture Biotechnology* (Fletcher, G. L. et M. L. Rise Eds), 1^{ère} édition, Wiley-Blackwell, Oxford, Royaume-Uni, p. 177-192.

- Von Bayer, H., 1910. A method of measuring fish eggs. Bulletin of the Bureau of Fisheries. 28: 1009-1014.
- Wendelaar Bonga, S. E., 1997. The stress response in fish. Physiological Reviews. 77: 591-625.
- Woodward, C. C. et R. J. Strange, 1987. Physiological stress responses in wild and hatchery-reared rainbow trout. Transactions of the American Fisheries Society. 116: 574-579.
- Yeoh, C.-G., C. B. Schreck, G. W. Feist et M. S. Fitzpatrick, 1996a. Endogenous steroid metabolism is indicated by fluctuations of endogenous steroid and steroid glucuronide levels in early development of the steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). General and Comparative Endocrinology. 103: 107-114.
- Yeoh, C.-G., C. B. Schreck, M. S. Fitzpatrick et G. W. Feist, 1996b. *In vivo* steroid metabolism in embryonic and newly hatched steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). General and Comparative Endocrinology. 102: 197-209.

