



Université du Québec
à Rimouski

**Variation spatiale du système squelettique alimentaire de la
carpe argentée (*Hypophthalmichthys molitrix*) dans le cadre de
son invasion en Amérique du Nord**

Mémoire présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en Gestion de la faune et de ses habitats

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

PAR

© AGATHE VALETTE

Décembre 2018

Composition du jury :

Christian Nozais, président du jury, Université du Québec à Rimouski

Richard Cloutier, directeur de recherche, Université du Québec à Rimouski

Julien Claude, codirecteur de recherche, ISEM, Université de Montpellier 2

Jean-Claude Brêthes, examinateur externe, ISMER, Université du Québec à Rimouski

Dépôt final le 14 décembre 2018

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

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

À mes oiseaux bleus,

REMERCIEMENTS

Merci Richard, pour ta confiance et nos chants de cigales durant ses trois années de collaboration. C'était un immense plaisir de travailler dans ton laboratoire et d'avoir pu profiter de ton expérience pour ma formation.

Merci Julien, pour ta collaboration assidue et le temps que tu as investi dans ce projet. Avoir pu bénéficier de tes connaissances et de ton aide particulièrement en statistiques ont été un complément très important dans ma formation.

Merci Olivier, ta contribution à ce projet a été d'une aide importante. Merci d'avoir été aussi présent dès que j'en avais besoin tant professionnellement qu'amicalement.

Merci à l'Illinois Natural History Survey et l'école vétérinaire de Champaign Urbana pour leur participation essentiel au terrain de recherche de ce projet.

Merci, immense, à ma sœur Colombe, pour avoir été une super acolyte de terrain durant un mois, pour la découpe de poisson sanguinaire, pour avoir trimbalé 150 kg de carpe argentée à travers deux états, pour avoir conduit les 6000 km de notre périple et pour m'avoir aidé à gérer les imprévus en tout genre.

Merci à ma famille du Québec, Luc, Rémi et Laura, pour tous les beaux moments que j'ai pu partager avec vous.

Merci à tous les "Rimouskois" avec qui j'ai pu partager ces années dans une immense chaleur malgré les hivers Québécois.

Merci à ma famille, mes amis de France et Adrien, pour leur soutien et leur présence malgré les kilomètres qui nous séparaient.

RÉSUMÉ

La carpe argentée est l'une des quatre espèces de carpes asiatiques envahissantes en Amérique du Nord qui menacent les écosystèmes en raison de leur grande capacité de compétition. Pour mieux comprendre son adaptabilité, les variations de la croissance et de la forme ont été analysées dans deux populations (Rivière Missouri et Illinois) en ciblant la variation du système squelettique alimentaire. L'analyse des différences dans les patrons de variations entre les deux populations a été effectuée à partir de radiographies du crâne des individus et avec la méthode de la morphométrie géométrique en ciblant les zones d'intérêt du système squelettique alimentaire. Les analyses ont été séparées en deux méthodes pour chaque objectif ; la première utilisant l'anatomie crânienne entière et la seconde utilisant les structures du crâne séparées dans le but d'éclairer l'effet des contraintes architecturales sur les résultats de morphométrie géométrique. La comparaison des résultats obtenus entre les deux méthodes utilisées semble suggérer que l'élimination des contraintes architecturales permettraient d'obtenir des résultats significatifs plus clairs. Les résultats mettent en évidence des différences de taille entre les deux populations, et une absence d'allométrie et de dimorphisme sexuel. La rivière de l'Illinois étant plus riche en phytoplancton, les individus de cette population sont plus grands mais les trajectoires ontogéniques des deux populations sont identiques. Malgré des environnements différents, la comparaison des patrons de covariation n'a pas démontré de différences ce qui suggère un développement robuste et que la plasticité phénotypique développementale n'est pas à l'origine de l'adaptabilité de cette espèce. Par ailleurs, l'étude des patrons d'intégration morphologique a été réalisée à l'aide du coefficient RV qui détermine le degré d'intégration entre deux structures. Ainsi ce coefficient permet d'investiguer si le système squelettique lié à la prise de nourriture est fortement intégré (les structures sont liées fortement entre elles dans le système) ou plutôt modulaire (les structures sont quasi-indépendantes). Les résultats du coefficient RV ont mis en évidence un système modulaire, ainsi les structures liées à la préhension lors de la prise de nourriture représentent un premier module et les structures liées à la mastication représentent un second module. Entre les structures de ces modules, les résultats montrent une forte intégration suggérant une intégration fonctionnelle forte dans les deux populations. Ainsi la carpe argentée semble avoir un développement intégré du système squelettique alimentaire pour les structures ayant des fonctions partagées afin de faire face aux perturbations environnementales.

Mots clés : Espèce envahissante, Comparaison spatiale, Variation phénotypique, Morphologie, Intégration, Développement, Covariation.

ABSTRACT

Silver carp is one of four invasive Asian carp species in North America that threaten ecosystems owing to their important competitive ability. A comparison between two populations (Illinois and Missouri rivers) was realised to improve knowledge about the Silver carp's success while focusing on the variation of the food processing skeletal system. The objectives were to obtain a better understanding of the growth and morphological variation in different invaded environments. Analysis of shape variation was conducted on X-rays using geometric morphometrics. Analyses were separated in two methods for each objective; (1) using the entire cranial anatomy and (2) using structures separately in order to highlight the effects of architectural constraints. Comparison of results obtained with the two methods seems to show that eliminating architectural constraints allows recognizing significant differences. First, results show size differences between the two populations but no allometry or sexual dimorphism. Illinois River is rich in phytoplankton owing to commercial activity; thus, individuals are bigger, but the ontogenetic trajectories are similar for the two populations. Secondly, covariance patterns were compared between the two populations, demonstrating that there are no significant differences. Food skeletal system of the two populations covaries similarly even if the environment differs suggesting ontogenetic robustness for this system. Thirdly, integration patterns were studied with the RV coefficients used to calculate the integration degree among structures. Thus, RV coefficients determine if the structures in the alimentary system are strongly cohesive (i.e. highly integrated) or quasi-independent (i.e. modular). Results of the RV coefficients, used to quantify correlation among structures, show no difference between the Illinois and Missouri populations. The structures from the inferior and superior parts of the feeding skeletal system suggest a modular system. Inferior parts are used for chewing and superior parts are used for prehension. In addition, RV coefficients of the structures in the inferior and superior parts suggest that structures in each module are highly integrated. Finally, results suggest a functional integration in this system for the Illinois and Missouri populations. Silver carp seems to have an integrated development of feeding skeletal system for the structures sharing functions to deal with environmental disturbances.

Keywords: Invasive species, Spatial comparison, Phenotypic variation, Morphology, Integration, Development, Covariation.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	5
RÉSUMÉ.....	6
ABSTRACT	7
TABLE DES MATIÈRES	8
LISTE DES TABLEAUX	9
LISTE DES FIGURES	10
LISTE DES ANNEXES	11
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
VARIATION SPATIALE DU SYSTÈME SQUELETTIQUE ALIMENTAIRE DE LA CARPE ARGENTÉE (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>) DANS LE CADRE DE SON INVASION EN AMÉRIQUE DU NORD.....	6
RÉSUMÉ EN FRANÇAIS DE L'ARTICLE	6
INTRODUCTION	8
MATERIAL AND METHODS	10
RESULTS	15
DISCUSSION	25
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	29
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	34
ANNEXE	39

LISTE DES TABLEAUX

Table 1 : Cranial anatomical structures and their associated landmarks.	11
Table 2 : Hypotheses of cranial modularity tested to investigate integration.	14
Table 3: Results of multivariate regression analysis of allometry and sexual dimorphism of cranial anatomy and hypothesized module on each population separately (Illinois and Missouri) using the PCA axes that represented 90%, 95% and 75% of the total variation.	17
Table 4 : Relationship of shape and size of cranial anatomy and hypothesized module for each sex and population using the PCA axes that represented 95%, 90%, and 75% of the total variation.	19
Table 5: Results of multivariate model of cranial anatomy and hypothesized module with population (Illinois and Missouri), sex, size and their interactions using the PCA axes that represented 90%, 95% and 75% of the total variation.	20
Table 6: Results of the random skewers function and Mantel test comparing covariance matrices of landmarks coordinates for the cranial anatomy and each module of the two populations (Illinois and Missouri).	21
Table 7: RV coefficients with the same Procrustes analysis for each module association and the confidence interval with the 2.5% and 97.5% quantile of the Illinois and Missouri populations. A= Premaxillary, B= Dentary, C= Subopercular, D= Dermatocranium, E= Parasphenoid.	22
Table 8: RV coefficients with one Procrustes analysis for each module association and the confidence interval with the 2.5% and 97.5% quantile of the Illinois and Missouri populations. A= Premaxillary, B= Dentary, C= Subopercular, D= Dermatocranium, E= Parasphenoid.	23

LISTE DES FIGURES

- Figure 1:** Landmarks (large red dots) and semi-landmarks (small black dots) positioning. (A) Radiograph representing landmarks positioning and curves on a specimen of *Hypophthalmichthys molitrix* from the Illinois River, Illinois, USA. (B) Schematic representation of the partition of landmarks and semi-landmarks. 12
- Figure 2:** A. Bivariate plot of PCA cranial anatomy of Illinois (circle) and Missouri (square) and sex (blue: male; pink: female) representing variation on PC1 (21%) and PC2 (16%) axes. B-C. Maximum (Red) and minimum (Blue) shape estimations on (B) PC1 and (C) PC2 axes..... 16
- Figure 3:** A. Bivariate plot of PCA premaxillary of Illinois (circle) and Missouri (square) populations and sex (blue: male and pink: female) representing variation on PC1 and PC2 axes. B-C. Maximum (Red) and minimum (Blue) shape on PC1 (B) and PC2 (C) axes. ... 44
- Figure 4:** A. Bivariate plot of PCA skull of Illinois (circle) and Missouri (square) and sex (blue: male and pink: female) representing variation on PC1 and PC2 axes. B-C. Maximum (Red) and minimum (Blue) shape on PC1 (B) and PC2 (C) axes..... 45
- Figure 5:** A. Bivariate plot of PCA dentary of Illinois (circle) and Missouri (square) and sex (blue: male and pink: female) representing variation on PC1 and PC2 axes. B-C. Maximum (Red) and minimum (Blue) shape on PC1 (B) and PC2 (C) axes. 46
- Figure 6:** A. Bivariate plot of PCA subopercular of Illinois (circle) and Missouri (square) and sex (blue: male and pink: female) representing variation on PC1 and PC2 axes. B-C. Maximum (Red) and minimum (Blue) shape on PC1 (B) and PC2 (C) axes. 47

LISTE DES ANNEXES

- Annexe 1:** Scheme of modules used for the first hypothesis of modularity of the feeding skeletal system of *Hypophthalmichthys molitrix* (planar X-ray of the head) (red : dermatocranium and parasphenoid ; yellow: premaxillary, dentary and subopercular).39
- Annexe 2:** Scheme of modules used for the second hypothesis of modularity of the feeding skeletal system of *Hypophthalmichthys molitrix* (planar X-ray of the head) (red: dermatocranium and parasphenoid; blue circle: premaxillary; yellow: dentary and green: subopercular).....40
- Annexe 3:** Scheme of modules used for the third hypothesis of modularity of the feeding skeletal system of *Hypophthalmichthys molitrix* (planar X-ray of the head) (red: dermatocranium; purple: parasphenoid; blue circle: premaxillary; yellow: dentary and green: subopercular).....41
- Annexe 4:** Results for each hypothesized module for the differences between the two populations for size and sex size dimorphism and the interaction between sex and population.....42
- Annexe 5:** Supplementary materials for the bivariate plot of PCA for each module hypothesized of Illinois and Missouri populations.43
- Annexe 6:** Results of multivariate regression analysis of allometry and sexual dimorphism of cranial anatomy and hypothesized module on each population separately (Illinois and Missouri) using the PCA axes that represented 90%, 95% and 75% of the total variation. .48
- Annexe 7:** Relationship of shape and size of cranial anatomy and hypothesized module for each sex and population using the PCA axes that represented 95%, 90%, and 75% of the total variation.49

Annexe 8: Results of multivariate model of cranial anatomy and hypothesized module with population (Illinois and Missouri), sex, size and their interactions using the PCA axes that represented 90%, 95% and 75% of the total variation. 50

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les espèces envahissantes ont un impact reconnu à l'échelle planétaire sur les espèces natives et sur les écosystèmes (Sakai *et al.*, 2001). Les carpes asiatiques, qui appartiennent à la famille des Cyprinidae, en font partie et elles représentent une grande menace en Amérique du Nord (Chick et Pegg, 2001 ; Nelson *et al.*, 2016). Le terme "carpe asiatique" regroupe quatre espèces de carpes considérées envahissantes en Amérique du Nord : la carpe noire (*Mylopharyngodon piceus*), la carpe roseau (*Ctenopharyngodon idella*), la carpe à grosse tête (*Hypophthalmichthys nobilis*) et la carpe argentée (*Hypophthalmichthys molitrix*) (Conover *et al.*, 2007). Les carpes asiatiques sont natives de l'Est de l'Asie (Kolar *et al.*, 2005). Elles ont été introduites, il y a près de 50 ans, en Amérique du Nord dans le but d'améliorer la qualité des eaux des bassins d'aquaculture, des eaux usées et pour effectuer un meilleur contrôle du plancton (Kolar *et al.*, 2005). Les deux principaux événements responsables de l'invasion des carpes asiatiques dans le fleuve Mississippi et ses tributaires (rivières Ohio, Wabash, Illinois et Missouri) sont les inondations ayant eu lieu en 1970, où des individus se sont échappés des bassins, ainsi que les introductions volontaires (Kolar *et al.*, 2005 ; ACRCC, 2016). Aujourd'hui, l'invasion des carpes asiatiques menace les Grands Lacs du Canada et les eaux douces envahies subissent des altérations dans l'ensemble de l'écosystème (ACRCC, 2016).

La première introduction de carpe argentée a eu lieu en Arkansas en 1973, puis elle a continué sa colonisation en direction du nord (Conover *et al.*, 2007). Ce comportement invasif vers le nord menace les Grands Lacs et les eaux douces du Canada, dont celle du Québec par les connexions omniprésentes dans le système hydrographique (ACRCC, 2016 ; DeGrandchamp *et al.*, 2008). L'étude de DeGrandchamp *et al.* (2008) a permis de mettre

en évidence que le taux de déplacement des individus est corrélé avec le débit de l'eau. Le potentiel invasif de la carpe argentée est associé à un fort taux de croissance et une reproduction rapide et abondante, une forte capacité de dispersion et une grande tolérance aux paramètres environnementaux (Kolar et Lodge, 2001 ; Kolar, 2002 ; Parry, 2009).

La plasticité couplée au comportement invasif a permis à certaines espèces de poissons de s'établir dans de nouveaux environnements et d'y être de très bonnes compétitrices (Bøhn *et al.*, 2004). Chez les carpes asiatiques, le phénotype et les traits d'histoire de vie peuvent changer en fonction de l'environnement envahi leur permettant d'être de grandes compétitrices (Chick et Pegg, 2001 ; Coulter *et al.*, 2013 ; Hayer *et al.*, 2014). La carpe argentée est aussi capable d'exprimer une certaine plasticité de ses traits d'histoire de vie. Comme défini dans West-Eberhard (1989), la plasticité phénotypique est "*la capacité d'un seul génotype à produire plus qu'une forme alternative au niveau de sa morphologie, de son état physiologique, et/ou de son comportement en réponse à des conditions environnementales*". Coulter *et al.* (2013) ont étudié la plasticité phénotypique des traits liés au frai en fonction du régime hydrologique et de la température moyenne de l'eau de deux populations de carpe argentée et de carpe à grosse tête et ont mis en évidence que ces traits changeaient lorsque ces deux espèces envahissent un nouvel écosystème, leur facilitant invasion et établissement. De plus, des études ont mis en évidence qu'il y avait des différences de taux de croissance et de condition entre les populations de carpe argentée des rivières Missouri, Mississippi et Illinois, ces populations n'étant pas toutes au même stade d'invasion (Hayer *et al.*, 2014 ; Williamson et Garvey, 2005). Une étude expérimentale du développement et du comportement des larves de *H. molitrix*, a également montré que leur développement était plus rapide dans des conditions de température plus élevée (Chapman et George, 2011). Par ailleurs, la variation phénotypique des traits d'histoire de vie a aussi été reportée chez d'autres espèces envahissantes de poissons, par exemple chez *Neogobius melanostomus* qui exprime des différences entre les populations natives et non-natives (Hôrková et Kováč, 2014). De même, *Morone americana* présente une variation de ses traits d'histoire de vie lui permettant de mieux s'adapter durant l'invasion (Feiner *et al.*, 2012). Ainsi la capacité des espèces envahissantes

à exprimer de la variation phénotypique est l'une des caractéristiques les plus importantes leur permettant d'être des envahisseurs idéaux dans des environnements inconnus (Hôrková et Kováč, 2014). La carpe argentée étant reconnue comme une espèce envahissante pourrait aussi exprimer de la variation entre les milieux envahis.

La capacité à s'alimenter est d'une importance majeure pour la survie d'une espèce dans un environnement donné (Smith et Skúlason, 1996). Dans le cas d'une invasion, les ressources peuvent différer de celles du milieu natif et les individus doivent donc s'adapter à ces nouvelles ressources alimentaires (Kolar et Lodge, 2001 ; Smith et Skúlason, 1996). La variation phénotypique peut concerner également la morphologie liée à l'alimentation. Par exemple, chez deux espèces de *Geophagus*, il est observé des divergences de la mâchoire et du crâne selon le type d'alimentation, soit des larves de Chironomidae soit des nauplii ; on peut parler de polymorphisme des ressources (Wimberger, 1992). Chez *Lepomis gibbosus*, une comparaison du mécanisme d'alimentation, dans trois lacs où les ressources alimentaires étaient différentes, a montré des divergences dans la croissance des os et des muscles associés à l'alimentation ainsi qu'au niveau des dents pharyngiennes (Wainwright, 1991). La réponse plastique du phénotype face à la nouveauté d'une ressource dans un environnement est à l'origine des modifications du mécanisme alimentaire (Wainwright, 1991). L'appareil alimentaire est composé de muscles effectuant des pressions sur les os où ils sont rattachés par intermédiaire de ligaments ; la pression sera différente selon les ressources alimentaires et ajuste ainsi le phénotype au cours de l'ontogénie (Wainwright, 1991). En tenant compte de ces informations et du fait que les populations de carpe argentée fréquentent des milieux avec des ressources différentes, on peut supposer qu'elles pourraient exprimer une variation de leur morphologie alimentaire pour conquérir au mieux l'environnement envahi.

La carpe argentée est un poisson filtreur avec des branchies formant du mucus lui permettant d'agglomérer les petites particules, et des dents pharyngiennes lui permettant de broyer la nourriture contre une plaque cartilagineuse (Calkins *et al.*, 2012 ; Lu et Xie, 2001). La carpe argentée est une espèce spécialiste, *H. molitrix* consomme principalement

du phytoplancton mais il est aussi capable de s'alimenter de zooplancton, d'invertébrés, de détritus et de bactéries (Williamson et Garvey, 2005). *H. molitrix* peut consommer une grande gamme de tailles de phytoplancton et de zooplancton : l'étude de son alimentation dans les rivières Mississippi et Illinois montre qu'elle peut consommer plusieurs types de proies suggérant une plasticité importante du régime alimentaire bien que ce soit une espèce spécialiste (Sampson *et al.*, 2009). De plus, il est suggéré que les carpes argentées de la rivière Missouri consommeraient de grandes quantités de détritus (Sampson *et al.*, 2009). D'après cette dernière étude, il est possible que les carpes argentées présentent des modifications de leur régime alimentaire. Ainsi, ces modifications possibles du régime alimentaire pourraient entraîner des variations de leur système squelettique alimentaire.

L'étude de la variation de la morphologie des populations de *H. molitrix* pourrait permettre de comprendre l'évolution de la colonisation de cette espèce. En effet, les variations peuvent être identifiées par l'analyse de la morphologie des populations ainsi que l'étude des patrons de croissance qui peuvent varier. De même, les relations entre les structures des individus peuvent aussi être étudiées pour analyser les variations. L'étude de la variation des individus peut se faire grâce à deux concepts souvent utilisés en morphométrie : l'intégration morphologique et la modularité. Ces derniers sont intrinsèquement liés, ils représentent les relations entre les structures d'un organisme et donnent des indices sur la capacité de variation (Klingenberg, 2008). Klingenberg (2008) et Armbruster *et al.*, (2014) ont défini en détail les différents types d'intégration et de modularité ainsi que les liens entre eux. L'intégration morphologique se traduit par la mesure des relations d'interactions entre les structures d'un système. Ainsi, elle représente la tendance de différents traits à varier de manière coordonnée dans une structure morphologique ou un organisme entier. La modularité présuppose que la morphologie des organismes s'organise en modules, et que les traits à l'intérieur d'un module devraient être plus fortement intégrés comparativement aux traits entre les modules (Klingenberg, 2008, Simon 1965, Wagner 1996). Un module est donc un trait ou un ensemble de traits qui sont plus fortement intégrés entre eux qu'avec les autres traits (Willmore *et al.*, 2016). Ces deux concepts sont utiles pour comprendre la variation de la morphologie entre les populations

car la modularité favorise plutôt une covariation partitionnée. Des populations faisant face à une nouvelle ressource pourraient faire varier la structure nécessaire indépendamment des autres structures du système (Cheverud, 1996 ; Monteiro *et al.*, 2005). L'absence de modularité (forte intégration morphologique) favoriserait plutôt une protection face à des perturbations environnementales rencontrées car le développement est robuste et intégré (Armbruster *et al.*, 2014).

L'objectif de mon projet de maîtrise est d'étudier la variation morphologique du système squelettique liée à l'alimentation (c'est-à-dire les os associés aux mâchoires et aux arcs pharyngiens et branchiaux et du palais, en tenant compte des insertions musculaires et des articulations entre les os) de la carpe argentée à l'aide de la morphométrie géométrique. La morphométrie géométrique consiste à positionner un ensemble de points repère (landmarks) dans le même arrangement spatial sur chaque individu d'un échantillon (Bookstein, 1997). Ces points, qui définissent ainsi la morphologie des individus de l'échantillon, permettent de quantifier des différences dans la morphologie qui peuvent parfois être très subtiles (Bookstein, 1997 ; Park *et al.*, 2013). Par ailleurs, la méthode permet d'identifier les régions de la morphologie qui sont susceptibles de varier et d'associer cette variation avec un ensemble de variables explicatives (Bookstein, 1997). La variation sera étudiée entre des individus provenant de la rivière Illinois (État de l'Illinois) et de la rivière Missouri (État de l'Illinois) aux États-Unis, ces deux dernières étant envahies par des populations dans deux conditions environnementales dont les ressources alimentaires sélectionnées par les individus diffèrent (Sampson *et al.*, 2009). Dans un premier temps, la présence ou l'absence d'allométrie sera étudiée dans les deux populations dans le but de comprendre l'effet de la taille. Dans un deuxième temps, les patrons de covariation seront étudiés et comparés entre les deux populations. Dans un troisième temps, les patrons d'intégration et de modularité des deux populations seront analysés. Cet objectif permettra de mettre en évidence le développement du système squelettique alimentaire des deux populations, qui est soit fortement intégré ou plutôt modulaire.

VARIATION SPATIALE DU SYSTÈME SQUELETTIQUE ALIMENTAIRE DE LA CARPE ARGENTÉE (*HYPOPHTHALMICHTHYS MOLITRIX*) DANS LE CADRE DE SON INVASION EN AMÉRIQUE DU NORD

RESUME EN FRANÇAIS DE L'ARTICLE

La carpe argentée représente une menace pour les écosystèmes d'eau douce canadiens. Elle est l'une des quatre espèces de carpes asiatiques envahissantes en Amérique du Nord. Ainsi pour mieux comprendre son adaptabilité, les variations de la croissance et de la forme, deux populations (Rivière Missouri et Illinois) ont été analysées en ciblant la variation du système squelettique alimentaire. L'analyse des différences dans les patrons de variation entre les deux populations a été effectuée à partir de radiographies du crâne des individus et avec des méthodes de morphométrie géométrique en ciblant les zones d'intérêt du système squelettique alimentaire. Les résultats montrent des différences de taille entre les deux populations, et une absence d'allométrie et de dimorphisme sexuel. La Rivière Illinois étant plus riche en ressources phytoplanctoniques, les individus de cette population sont plus grands mais les trajectoires ontogéniques des deux populations sont identiques. Malgré des environnements différents, les patrons de covariation des deux populations ne démontrent pas de différences, suggérant que la plasticité développementale n'est pas à l'origine de l'adaptabilité de cette espèce. Par ailleurs, l'étude des patrons d'intégration morphologique a été réalisée pour vérifier si le système squelettique lié à la prise de nourriture est fortement intégré (les structures sont liées fortement entre elles dans le système) ou plutôt modulaire (les structures sont quasi-indépendantes). Les résultats du coefficient RV ont mis en évidence que les parties inférieures et supérieures du système squelettique alimentaire sont modulaires et que les structures présentes dans les modules [dermatocrâne + parasphénoïde] et [prémaxillaire + dentaire + sous operculaire] sont fortement intégrées entre elles. Finalement, les résultats suggèrent une intégration fonctionnelle forte de ces deux modules dans les deux populations, ainsi la carpe argentée semble avoir un développement intégré pour les structures partageant des fonctions lors de la prise de nourriture pour faire face aux perturbations environnementales.

L'article qui suit est intitulé « Spatial variation of Silver carp feeding skeletal system in the case of North American invasion » et a été corédigé par moi-même ainsi que le Dr Richard Cloutier, le Dr Julien Claude et le Dr Olivier Larouche. L'article sera soumis dans la revue « *Evolutionary Biology* ». Mon travail de première auteure a consisté à effectuer l'essentiel de la recherche bibliographique, la réalisation d'une méthode adéquate, de la prise de données sur le terrain, des analyses statistiques et la rédaction de l'article. Le Dr Richard Cloutier a apporté son aide pour la réalisation des hypothèses de recherches et la méthode ainsi que pour la rédaction de l'article. Le Dr Julien Claude a participé au choix et à la réalisation des analyses statistiques ainsi qu'à la rédaction. Le Dr Olivier Larouche a participé à la réalisation des analyses statistiques de l'article.

INTRODUCTION

Invasive species can have an impact on native species and ecosystem on a global scale. An example of this impact is given by the Asian carp (Sakai *et al.*, 2001), species that were introduced in North America 50 years ago in the Mississippi River to help on-land aquaculture facilities (Chick et Pegg, 2001). Native from East Asia, there are four species of Asian carps: Black carp (*Mylopharyngodon piceus*), Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), Bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) and Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) (Conover *et al.*, 2007). The main event that caused the subsequent invasion was a flood in 1970 that allowed some specimens to escape into the Mississippi River and begin to colonize it (Kolar *et al.*, 2005; ACRCC, 2016). Today, they represent a major threat for the Great Lakes and other watersheds (ACRCC, 2016). Invasion of the Silver carp is fast, and its dispersion is large (ACRCC, 2016). Currently, Silver carp populations are established in the Mississippi River and its tributaries (e.g., Ohio, Wabash, Illinois, Missouri rivers) (Kolar *et al.*, 2005).

Silver carp has a significant potential for invasion due to its ability to tolerate different environmental conditions, and to its high rate of growth and reproduction (Kolar *et al.*, 2005). In addition, this species can express phenotypic plasticity of its life history traits, making it able to adapt to a large diversity of environments (ACRCC, 2016). Some studies have reported cases of trait variation among different populations of Silver carp (Hayer *et al.*, 2014; Williamson and Garvey, 2005). Differences in growth rate and condition index are highlighted among the Missouri, Mississippi and Illinois rivers (Hayer *et al.*, 2014; Williamson and Garvey, 2005). Moreover, experimental studies show that larval development of Silver carp is faster at higher temperatures (Chapman and George, 2011). Inter-population variation has been reported in various invasive species. For example, one study on *Lepomis gibbosus* showed variation in the feeding skeletal system among three populations with different natural diets (Wainwright, 1991). Given the distribution, the multiple North American populations of Silver carp can potentially present trait variation. In this study, the focus was to understand the feeding skeletal system variations between populations where food resources seem to differ (Williamson

and Garvey, 2005). Although the Silver carp is known as a feeding specialist, Williamson and Garvey (2005) showed diet variation between Illinois and Missouri river populations.

Morphological integration and modularity are principles that could be used to understand how spatial variation is present in the Silver carp populations. Morphological integration and modularity are measures of the strength of association between organismal traits and structures (Klingenberg, 2002). Morphological integration represents the relationships among structures stronger than within a structure. On the other hand, modularity represents a strong relation within a structure (Klingenberg, 2008, Simon 1965, Wagner 1996). Several types of integration and modularity (e.g., variational, developmental, functional and evolutionary) exist and were reviewed in Klingenberg (2008) and Armbruster *et al.* (2014). In an evolutionary context, higher morphological integration may promote an environmental robustness and protection from environmental perturbations, possible through canalisation of the development (Armbruster *et al.*, 2014). In contrast, modularity favors localised variation and evolvability (Cheverud *et al.*, 1996; Hansen and Houle, 2004). Thus, in an invasion case, which strategies could be used by Silver carp populations to share the most efficient development? Is it a modular or an integrated feeding skeletal system?

The aim of this study is to examine and compare the variations of the feeding skeletal system of the Silver carp in the Illinois and Missouri populations. Firstly, the presence of allometry and sexual dimorphism (sex shape dimorphism) is investigated to control for differences between the two populations and analyze the effects of size and sex. Secondly, covariation patterns in the two populations are compared to investigate developmental robustness and to understand the functional association among feeding skeletal structures. Thirdly, integration patterns are examined in the two populations to determine potential feeding strategies of both populations.

MATERIAL AND METHODS

Study area

To investigate variation within and between populations of the Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), we collected specimens from two large river systems that differed in their ecological and physico-chemical properties. The first study area was the Missouri River, where 30 silver carp specimens (8 females and 22 males) were collected from one of its important tributaries, the Lamine River in Cooper County (38.92606, -92.92890), Illinois, USA. This is a highly turbid river that flows through rural territories where corn, soybean, sorghum and wheat are cultivated. The silver carp population of this area are planktivores, primarily feeding on phytoplankton. The population is very large, and phytoplankton biomass seems to be low (Joseph Deters, pers. comm.). One specimen was eliminated from the sample because it represents extreme data. They were fished with a Dozer Trawl net and euthanized using Tricaine MS-222 injection on October 19th and 20th 2016, and then they were frozen.

The second study area was the Illinois River, where 30 silver carp specimens (8 females and 22 males) were captured near the town of Morris (41.354737, -88.421266), Illinois, USA. In contrast to Lamine River, this area is subject to tourism and commercial transport impacting the environment. Phytoplankton biomass is high (Stuck *et al.*, 2015). They were fished using a Dozer Trawl net on March 9th, 2017. They were euthanized with Tricaine MS-222 injections, and then stored in ice.

Specimen preparation and biological variables

Specimens were dissected and sexed based on their gonads. The right sides of each specimen were X-rayed (Centura X-rays) at the University of Illinois College of Veterinary Medicine.

Geometric morphometrics

Morphological divergences between the two populations were analyzed using geometric morphometrics. Landmarks were used to analyze the cranial anatomy system of the

Silver carp. Thirteen landmarks and 27 semi-landmarks (Figure 1; Table 1) were digitized on X-ray images using TpsDig version 2.32 (Rohlf, 2013). Landmarks and semi-landmarks defined structures of the feeding skeletal system described in table 1 and figure 1. All the subsequent analyses were realized in R (R Core Team, 2018). Landmarks and semi-landmarks were digitized twice for 20% of the sample to assess the significance of measurement error following the method of Yerezinac *et al.* (1992) for both size and shape using an ANOVA for size and a Procrustes ANOVA for shape (as in Claude *et al.*, 2003).

Landmarks and semi-landmarks were superimposed with a general partial Procrustes analysis using the package geomorph in R and by minimizing the Procrustes distance rather than the bending energy (Dryden and Mardia 1998; Claude 2008; Zelditch, 2012). A principal component analysis (PCA) was used to visualize the morphological variation among individuals between the two populations, and the variation on the two principal component axes (PC) was represented graphically using the Morpho package in R (R Core Team, 2018).

Table 1 : Cranial anatomical structures and their associated landmarks.

Landmarks	Structures
1, 2, 3	Premaxillary
4, 5, 6, 7	Dermatocranium
8, 9	Parasphenoid
10, 11	Dentary
12, 13	Subopercular

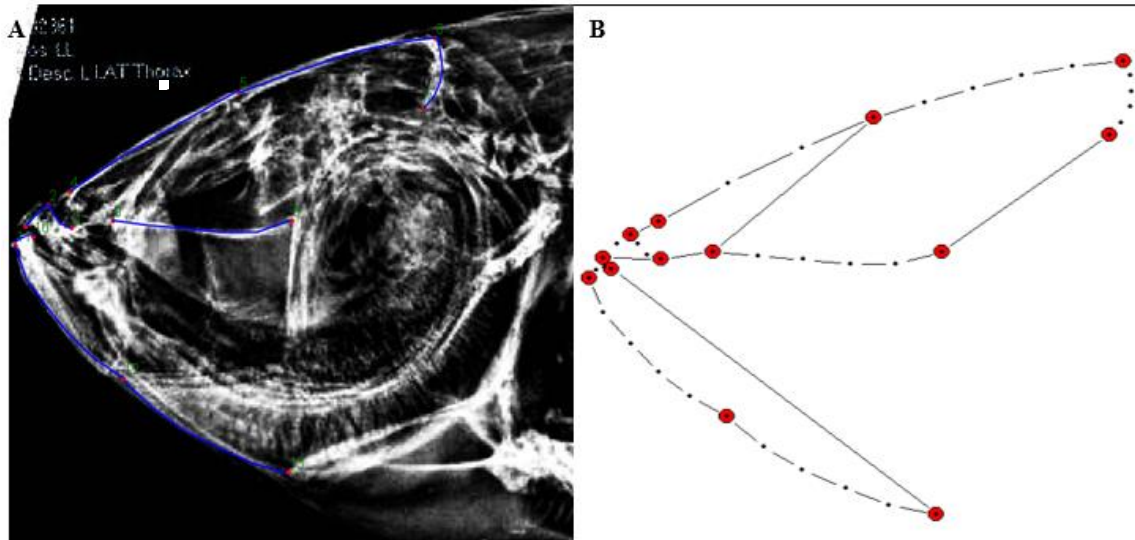


Figure 1: Landmarks (large red dots) and semi-landmarks (small black dots) positioning. (A) Radiograph representing landmarks positioning and curves on a specimen of *Hypophthalmichthys molitrix* from the Illinois River, Illinois, USA. (B) Schematic representation of the partition of landmarks and semi-landmarks.

Allometry and sex dimorphism

A regression analysis was used to investigate if the two populations differ in size and if there is a sex size dimorphism. The relationship between shape, size (allometry) and sex (shape dimorphism) was obtained by regressing shape on size (multivariate regression). Allometry was tested for each population separately using the PC axes that represented 90, 95 and 75% of the total variation. A general multivariate model was used to investigate sexual dimorphism differences between populations, relationship with size and all possible interactions. There were many shape variables (80 landmarks) by comparison to the number of individuals (60), thus, shape variation was summarized on the first PC axes totalizing 37 % of shape variation. Same analyses were also performed on structures separately (Table 1).

Comparison of covariance structure between the two populations

Covariance matrices of landmark coordinates for the two populations were estimated from the superimposed dataset. A Mantel test was used to compare the significance of the correlations of these populations using Klingenberg and McIntyre's (1998) method and Claude's (2008) routines in R, which permutes x and y coordinates of landmarks. Covariance matrices were also compared with the random skewer function according to the method used by Jamniczky and Hallgrímsson (2009) using the phytools package in R (Revell, 2012). These analyses were repeated on individual partitions to examine potential differences at the scale of individual modules in covariance structure between the two populations.

Integration and RV coefficient

Hypotheses of variational modules of the cranial anatomy were formulated based on the function of the different bones in the feeding system (Table 2, Appendix 1, 2, 3). Hypotheses were constructed to follow a hierarchical scheme, thereby Hypothesis 3 implies Hypothesis 2 that itself implies Hypothesis 1 (Table 2). Hypothesis 1 is composed by two modules: [Dermatocranium + Parasphenoid] and [Premaxillary + Dentary + Subopercular]. Hypothesis 2 is composed by four modules: [Dermatocranium + Parasphenoid], [Premaxillary], [Dentary] and [Subopercular]. Hypothesis 3 is composed by five modules which are the same as Hypothesis 2 but dermatocranium and parasphenoid are considered as separate modules. The RV coefficient was used to measure the correlation among the different modules (Robert & Escoufier, 1976; Claude, 2008). RV coefficient varies between 0 (low integration) and 1 (high integration). Firstly, RV coefficients were determined with a Procrustes superimposition performed on the entire configuration. This method preserves the relative position of the partitioning and the relative size among modules. Therefore, covariation patterns among modules depend on geometric constraints between modules but also on their relative size because they are constrained using only one and whole superimposition. Secondly, RV coefficients were determined by working on every module but doing individual superimposition for each. By doing so, each module is scaled to unique centroid size and physical constraints among modules are discarded. Once RV coefficients were obtained, we performed

bootstrap individuals with 1000 iterations to assess the confidence interval with the 2.5% and 97.5% quantile. This allowed comparing integration coefficients between the two populations.

Table 2 : *Hypotheses of cranial modularity tested to investigate integration.*

	Hypothesis 1	Hypothesis 2	Hypothesis 3
Modules	[Dermatocranium + Parasphenoid]	[Dermatocranium + Parasphenoid]	Dermatocranium
	[Premaxillary + Dentary + Subopercular]	Premaxillary	Parasphenoid
		Dentary	Premaxillary
		Subopercular	Dentary
			Subopercular

RESULTS

Results are regrouped in three types of analyses. First, the results concerning the effect of size, then the results about allometry and sex dimorphism for the whole cranium and for each hypothesized module. Second, comparisons of covariance structure between populations are presented. Third, results of integration and RV coefficient are described.

Size, allometry and sex dimorphism

The two populations differ significantly in cranium size ($F_{1,55} = 67.29$; $p = 0.001$). There is no sex size dimorphism ($F_{1,55} = 0.0877$; $p = 0.768$), and the interaction between population and sex is not significant ($F_{1, 55} = 0.0515$; $p = 0.821$). Similar analyses were performed for each hypothesized module and there are no differences with the analysis including the whole cranium. Detailed results are provided in supplementary materials (Appendix 4).

The first two PC of the superimposed coordinates explained 37% of the total variation for the whole cranium. The Illinois and Missouri populations are distinct graphically by combining the first two axes (Figure 2A); Missouri population has high scores on PC1 and PC2, whereas Illinois population has lower scores. Furthermore, shape does not appear to be distinct between males and females (Figure 2A). Visual analysis of the maximum and minimum extreme shape on PC1 does not show important variation (Figure 2B). On PC2, variation between the maximum shape appear to be small (Figure 2C). Similar analyses were performed on each hypothesized module (Appendix 5).

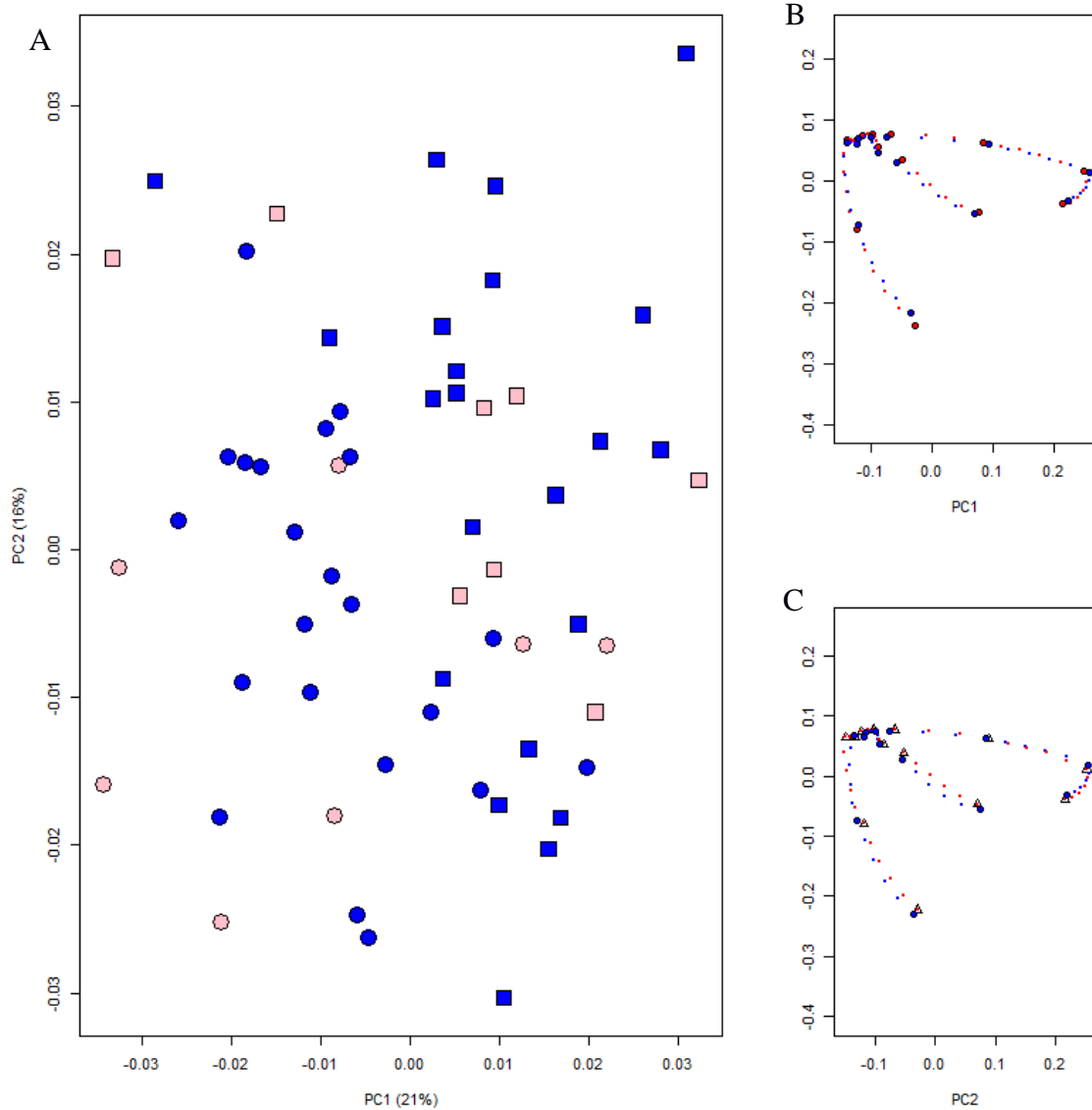


Figure 2: A. Bivariate plot of PCA cranial anatomy of Illinois (circle) and Missouri (square) and sex (blue: male; pink: female) representing variation on PC1 (21%) and PC2 (16%) axes. B-C. Maximum (Red) and minimum (Blue) shape estimations on (B) PC1 and (C) PC2 axes.

Size and sex are not significantly different in Illinois and Missouri specimens. Size or sex does not explain shape variation (Table 3). Furthermore, there is no significant difference

in allometry between sexes in the Illinois and Missouri populations (Table 3). Therefore, we consider that there is no allometry or sex shape dimorphism within each population (Table 3). Similar analyses were performed on each hypothesized module and all the results are presented in the supplementary materials (Appendix 6). Only significant results for the whole cranium analyses are described and summarized in table 3.

There are differences in premaxillary size among individuals from the Illinois and Missouri populations. Allometry is significant for explaining shape variation within populations for the premaxillary. Illinois skull samples differ significantly for sex in 95% and 90% of total variation (Table 3). Illinois dentary samples differ significantly for size for 90% and 95% of total variation. Even if Illinois size for 90% and 95% are significant, none of the interactions was significant; thus, there is no allometry and no sex shape dimorphism in either population (Table 3).

Table 3: Results of multivariate regression analysis of allometry and sexual dimorphism of cranial anatomy and hypothesized module on each population separately (Illinois and Missouri) using the PCA axes that represented 90%, 95% and 75% of the total variation.

Whole cranium			
Illinois			
	95%	90%	75%
Size	$F_{1,14} = 0.75099$; $p = 0.6986$	$F_{1,11} = 1.0039$; $p = 0.4857$	$F_{1,7} = 0.91592$; $p = 0.5156$
Sex	$F_{1,14} = 1.51875$; $p = 0.2370$	$F_{1,11} = 1.9462$; $p = 0.1147$	$F_{1,7} = 0.58592$; $p = 0.7592$
Size:Sex	$F_{1,14} = 1.07781$; $p = 0.4532$	$F_{1,11} = 1.3082$; $p = 0.3082$	$F_{1,7} = 2.05114$; $p = 0.1010$
Missouri			
Size	$F_{1,14} = 1.20602$; $p = 0.3706$	$F_{1,10} = 1.32296$; $p = 0.2941$	$F_{1,5} = 0.43859$; $p = 0.8167$
Sex	$F_{1,14} = 0.64872$; $p = 0.7840$	$F_{1,10} = 0.47688$; $p = 0.8827$	$F_{1,5} = 0.25804$; $p = 0.9311$
Size:Sex	$F_{1,14} = 0.70965$; $p = 0.7339$	$F_{1,10} = 0.66267$; $p = 0.7430$	$F_{1,5} = 0.95070$; $p = 0.4686$
Premaxillary			
Illinois			
Size	$F_{1,5} = \mathbf{3.5802}$; $p = \mathbf{0.01}$	$F_{1,4} = \mathbf{3.8112}$; $p = \mathbf{0.01}$	$F_{1,2} = \mathbf{5.4790}$; $p = \mathbf{0.01}$
Missouri			
Size	$F_{1,5} = \mathbf{3.3401}$; $p = \mathbf{0.02}$	$F_{1,4} = \mathbf{3.6111}$; $p = \mathbf{0.02}$	$F_{1,2} = \mathbf{6.9767}$; $p = \mathbf{0.003}$
Skull			
Illinois			
Sex	$F_{1,6} = \mathbf{3.6712}$; $p = \mathbf{0.01}$	$F_{1,5} = \mathbf{4.5592}$; $p = \mathbf{0.005}$	$F_{1,2} = 1.1885$; $p = 0.3220$
Dentary			
Illinois			
Size	$F_{1,8} = \mathbf{2.6871}$; $p = \mathbf{0.03}$	$F_{1,6} = \mathbf{3.1647}$; $p = \mathbf{0.02}$	$F_{1,3} = 0.7620$; $p = 0.5269$

- F values correspond to the approximative F.
- Boldface indicates significant results

By studying sex independently within each population, we can retrieve allometry only when using 95% of shape variation for the Missouri females. All other tests are not significant, showing again that size is not the major variable explaining shape variation within sex and population (Table 4). Analyses on the whole cranium are used for each hypothesized module. Only significant results are presented here. All detailed results are in the supplementary material (Appendix 7).

Furthermore, premaxillary female samples from the Illinois population differ significantly, and male samples from the Missouri population are also significantly different at all percentages of total variation (Table 4). Regression analyses demonstrate

that there is only a significant difference among dentary males from the Illinois population for 95% of total variation (Table 4).

Table 4 : Relationship of shape and size of cranial anatomy and hypothesized module for each sex and population using the PCA axes that represented 95%, 90%, and 75% of the total variation.

Whole cranium				
	Male		Female	
Size	Illinois	Missouri	Illinois	Missouri
95%	$F_{1,12} = 0.4574$; $p = 0.8965$	$F_{1,12} = 0.7671$; $p = 0.6726$	$F_{1,5} = 4.0501$; $p = 0.3597$	$F_{1,6} = 2.0807$; $p = 0.03$
90%	$F_{1,10} = 0.6562$; $p = 0.7425$	$F_{1,9} = 1.1151$; $p = 0.4203$	$F_{1,4} = 5.6792$; $p = 0.1553$	$F_{1,5} = 2.0807$; $p = 0.3557$
75%	$F_{1,6} = 0.4627$; $p = 0.8251$	$F_{1,5} = 1.1013$; $p = 0.3978$	$F_{1,3} = 0.1514$; $p = 0.9223$	$F_{1,3} = 0.1351$; $p = 0.9341$
Premaxillary				
	Male		Female	
Size	Illinois	Missouri	Illinois	Missouri
95%	$F_{1,5} = 2.404$; $p = 0.0829$	$F_{1,5} = 3.521$; $p = 0.02$	$F_{1,4} = 40.615$; $p = 0.02$	$F_{1,5} = 0.43309$; $p = 0.8051$
90%	$F_{1,4} = 2.5591$; $p = 0.076$	$F_{1,4} = 2.9525$; $p = 0.05$	$F_{1,3} = 8.8824$; $p = 0.03$	$F_{1,4} = 0.6649$; $p = 0.6579$
75%	$F_{1,2} = 2.9545$; $p = 0.076$	$F_{1,2} = 5.9634$; $p = 0.009$	$F_{1,2} = 11.26$; $p = 0.02$	$F_{1,2} = 0.9460$; $p = 0.4483$
Dentary				
	Male		Female	
Size	Illinois	Missouri	Illinois	Missouri
95%	$F_{1,8} = 2.8619$; $p = 0.04$	$F_{1,7} = 0.4707$; $p = 0.8401$	$F_{1,4} = 6.056$; $p = 0.1467$	$F_{1,5} = 0.7775$; $p = 0.6457$

- F values correspond to the approximative F.
- Boldface indicates significant results

Multivariate linear regression on the whole dataset and using sex, population, size and all interactions as explanatory variables reveals that population explains shape variation but not sex. None of the interactions is significant (Table 5). Some results for the analyses of each hypothesized module differ from the results for the whole cranium. Only significant

results are presented in this section; details are available in supplementary materials (Appendix 7).

Results differ significantly for the premaxillary size and population variables (Table 5). Population and size explain shape variation of the premaxillary but not sex. Population explains shape variation of the skull but not sex (Table 5). Population and size explain shape variation of the dentary (Table 5). For the subopercular, no significant difference is found for the size and population variables, except for one significant difference for the population variable for 90% of the total variation (Table 5).

Table 5: Results of multivariate model of cranial anatomy and hypothesized module with population (Illinois and Missouri), sex, size and their interactions using the PCA axes that represented 90%, 95% and 75% of the total variation.

Whole cranium			
Variation	95%	90%	75%
Size	$F_{1,17} = 1.0677$; $p = 0.4190$	$F_{1,12} = 1.4187$; $p = 0.1978$	$F_{1,7} = 0.5923$; $p = 0.7586$
Sex	$F_{1,17} = 0.5797$; $p = 0.8843$	$F_{1,12} = 0.8805$; $p = 0.5726$	$F_{1,7} = 0.8800$; $p = 0.5297$
Population	$F_{1,17} = \mathbf{3.0299}$; $p = \mathbf{0.003}$	$F_{1,12} = \mathbf{4.5213}$; $p = \mathbf{0.001}$	$F_{1,7} = \mathbf{3.3382}$; $p = \mathbf{0.005}$
Size:Sex	$F_{1,17} = 0.8265$; $p = 0.6544$	$F_{1,12} = 0.7582$; $p = 0.6876$	$F_{1,7} = 0.7501$; $p = 0.6313$
Size:Population	$F_{1,17} = 0.6655$; $p = 0.8134$	$F_{1,12} = 0.4524$; $p = 0.9302$	$F_{1,7} = 0.2844$; $p = 0.9567$
Sex:Population	$F_{1,17} = 1.5176$; $p = 0.1452$	$F_{1,12} = 1.5133$; $p = 0.1597$	$F_{1,7} = 0.4160$; $p = 0.8873$
Size:Sex:Population	$F_{1,17} = 1.2640$; $p = 0.2708$	$F_{1,12} = 1.9037$; $p = 0.0636$	$F_{1,7} = 1.6214$; $p = 0.1539$
Premaxillary			
Size	$F_{1,5} = \mathbf{7.0479}$; $p = \mathbf{0.001}$	$F_{1,4} = \mathbf{6.1366}$; $p = \mathbf{0.001}$	$F_{1,3} = \mathbf{7.2938}$; $p = \mathbf{0.001}$
Population	$F_{1,5} = \mathbf{3.8346}$; $p = \mathbf{0.005}$	$F_{1,4} = \mathbf{4.5155}$; $p = \mathbf{0.003}$	$F_{1,3} = \mathbf{4.6800}$; $p = \mathbf{0.006}$
Skull			
Population	$F_{1,10} = \mathbf{2.3782}$; $p = \mathbf{0.024}$	$F_{1,8} = \mathbf{2.3269}$; $p = \mathbf{0.0353}$	$F_{1,4} = \mathbf{4.5590}$; $p = \mathbf{0.003}$
Dentary			
Size	$F_{1,8} = \mathbf{2.4482}$; $p = \mathbf{0.027}$	$F_{1,7} = \mathbf{2.8378}$; $p = \mathbf{0.01}$	$F_{1,4} = \mathbf{2.7871}$; $p = \mathbf{0.03}$
Population	$F_{1,8} = \mathbf{3.1920}$; $p = \mathbf{0.006}$	$F_{1,7} = \mathbf{3.6155}$; $p = \mathbf{0.003}$	$F_{1,4} = \mathbf{6.5450}$; $p = \mathbf{0.0002}$
Subopercular			
Size	$F_{1,5} = 1.04863$; $p = 0.4007$	$F_{1,4} = \mathbf{2.5071}$; $p = \mathbf{0.05}$	$F_{1,2} = 1.2255$; $p = 0.30$
Population	$F_{1,5} = 1.9571$; $p = 0.1026$	$F_{1,4} = \mathbf{2.4396}$; $p = \mathbf{0.05}$	$F_{1,2} = 0.5470$; $p = 0.582$

- F values correspond to the approximative F.
- Boldface indicates significant results

Comparison of covariance structures between populations

Covariance structures are compared for the entire cranial anatomy and for each module separately with random skewers and Mantel tests. Results for the cranial anatomy, premaxillary, skull, dentary and subopercular show that the covariance matrices of the two populations do not differ significantly (Table 6). The dentary and skull show a weaker but significant r-coefficient (Table 6). Thus, patterns of covariation are similar between populations suggesting developmental robustness.

Table 6: Results of the random skewers function and Mantel test comparing covariance matrices of landmarks coordinates for the cranial anatomy and each module of the two populations (Illinois and Missouri).

Covariance matrix	Random skewers	Mantel test
Cranial anatomy	r = 0.68 ; p <0.0001	r = 0.72 ; p = 0.01
Premaxillary	r = 0.92 ; p <0.0001	r = 0.96 ; p = 0.01
Skull	r = 0.74 ; p <0.0001	r = 0.75 ; p = 0.02
Dentary	r = 0.75 ; p <0.0001	r = 0.78 ; p = 0.02
Subopercular	r = 0.94 ; p <0.0001	r = 0.97 ; p = 0.01

Integration and RV coefficient

The Illinois and Missouri populations seem to be well integrated at the level of the cranial anatomy; RV coefficient is relatively high in Hypothesis 1 (Table 7). The first method, with a Procrustes superimposition performed on the entire configuration, indicates no difference for RV coefficient between the Illinois and Missouri populations. Integration among different associations of modules in each hypothesis do not differ significantly; confidence intervals are large for each RV coefficient calculated (Table 7). Moreover, values of coefficient RV and values of confidence intervals are relatively high ranging

between 0.40 and 0.94. A high RV coefficient with a significant p-value suggests an independency of modules in cranial anatomy. In addition, p-value is significant for most results suggesting an independency of modules in cranial anatomy (Table 7). However, for the association [D-E] (Dermatocranium + Parasphenoid), RV coefficient is not significant, we can assume that this is owing to the mechanical and functional links between these structures (Table 7).

Table 7: RV coefficients with the same Procrustes analysis for each module association and the confidence interval with the 2.5 % and 97.5% quantile of the Illinois and Missouri populations. A= Premaxillary, B= Dentary, C= Subopercular, D= Dermatocranium, E= Parasphenoid.

		Hypothesis 1	
Module association		Illinois	Missouri
A,B,C	D,E	0.69<0.73<0.94 p = 0.012	0.70<0.71<0.91 p = 0.001
		Hypothesis 2	
A	B	0.57<0.58<0.87 p = 0.014	0.56<0.60<0.89 p = 0.003
A	D,E	0.63<0.76<0.89 p = 0.032	0.63<0.71<0.89 p = 0.005
B	D,E	0.65<0.87<0.91 p = 0.001	0.64<0.82<0.90 p = 0.001
B	C	0.58<0.84<0.91 p = 0.025	0.57<0.74<0.91 p = 0.01
D,E	C	0.62<0.72<0.88 p = 0.042	0.61<0.76<0.88 p = 0.003
		Hypothesis 3	
A	D	0.57<0.60<0.88 p = 0.009	0.56<.60<0.88 p = 0.001
A	B	0.62<0.69<0.91 p = 0.001	0.63<0.90<0.90 p = 0.021

D	E	0.57<0.77<0.93 p = 0.397	0.58<0.60<0.91 p = 0.153
D	C	0.55<0.59<0.84 p = 0.02	0.54<0.77<0.84 p = 0.003
E	C	0.57<0.73<0.85 p = 0.052	0.56<0.69<0.86 p = 0.009

- Boldface indicates significant results

With the second approach, when superimposing modules independently (see Methods), the results show no difference for RV coefficient between the Illinois and Missouri populations. Like the first method, integration among module associations do not differ significantly and confidence intervals are very large (Table 8). However, when superimposing modules independently in this approach, p-values for most results are not significant, except for the Hypothesis 1. A non-significant p-value for RV coefficient suggests integration among different module associations. These results suggest modularity between the superior and inferior parts of the cranial anatomy.

Table 8: RV coefficients with one Procrustes analysis for each module association and the confidence interval with the 2.5 % and 97.5% quantile of the Illinois and Missouri populations. A= Premaxillary, B= Dentary, C= Subopercular, D= Dermatocranium, E= Parasphenoid.

		Hypothesis 1	
Module association		Illinois	Missouri
A,B,C	D,E	0.60<0.72<0.91 p = 0.011	0.54<0.62<0.83 p = 0.014
		Hypothesis 2	
A	D,E	0.45<0.47<0.77 p = 0.339	0.42<0.44<0.81 p = 0.151
A	B	0.43<0.45<0.77 p = 0.828	0.49<0.53<0.82 p = 0.267
B	D,E	0.49<0.51<0.83 p = 0.454	0.53<0.58<0.84 p = 0.704
B	C	0.48<0.55<0.78	0.48<0.55<0.79

D,E	C	p = 0.023	p = 0.017
		0.44<0.46<0.78 p = 0.605	0.49<0.51<0.78 p = 0.056
Hypothesis 3			
A	D	0.40<0.43<0.76 p = 0.484	0.36<0.46<0.72 p = 0.389
A	E	0.38<0.43<0.75 p = 0.317	0.29<0.41<0.70 p = 0.421
A	B	0.41<0.45<0.76 p = 0.814	0.44<0.53<0.82 p = 0.268
D	E	0.35<0.46<0.74 p = 0.786	0.44<0.46<0.73 p = 0.745
D	C	0.36<0.49<0.73 p = 0.715	0.45<0.54<0.79 p = 0.619
E	C	0.30<0.36<0.66 p = 0.201	0.33<0.41<0.69 p = 0.115
B	C	0.46<0.54<0.78 p = 0.782	0.49<0.55<0.77 p = 0.764

- Boldface indicates significant results

DISCUSSION

The purpose of this study was to investigate morphological variation of Silver carp feeding skeletal system between the Illinois and Missouri populations. First, we found size differences between the two populations but no allometry or sexual dimorphism. Second, covariance patterns were compared between the two populations demonstrating that there is no significant difference. Third, RV coefficients, used to quantify correlation among structures, show no difference between the Illinois and Missouri populations. The first module hypothesis, opposing the inferior and superior parts of the feeding skeletal system, suggests a modular system. In addition, RV coefficients for the two other hypotheses suggest that structures in each module are highly integrated.

The first objective was to study if there was allometry and sex shape dimorphism intra and inter populations. The cranial anatomy and individual structures were investigated separately to eliminate architectural constraints. Results for the entire cranial anatomy and for individual structures showed a strong size effect between the two populations. This size difference between the two populations is likely because the Illinois population lives in an environment rich in phytoplankton (Stuck *et al.*, 2015). Allometry and sex shape dimorphism showed different results depending if we consider the whole shape or distinct modules. The entire cranial anatomy showed no allometry and sex shape dimorphism for the Illinois and Missouri populations but there was a difference in shape due to size (Table 3, Table 5). Females from the Missouri River showed a significant effect for size effect in 95% of the total variation (Table 4). We suggest that allometry would be found within the Missouri population if we were to increase the shape variation with a larger sample. Also, the significance disappears when 75% and 90% of the total variation are used, so, we can suppose that there is an artefact due to the small female sample for this population. The whole cranium seems to suggest that differences observed between the two populations are not due to allometry. Results for the allometry and sex shape dimorphism for individual structures were relatively different. No allometry and sex shape dimorphism were highlighted in this case, but elimination of architectural constraints allowed observing some differences. Illinois and Missouri premaxillary samples indicated significant differences for size (Table 3). There are

differences in premaxillary size among individuals from the Illinois and Missouri populations. Allometry is significant for explaining shape variation within populations for the premaxillary. It seems that there is size variation among individuals within a population. Furthermore, females from the Illinois population showed significant differences and males from the Missouri population showed significant differences for all percentages of the total variation (Table 4). Variation with respect to the premaxillary size seems to be in males from the Missouri population. Concerning the skull, there was a sex effect for 95% and 90% of total variation in the Illinois population (Table 3). For the dentary, there is a size effect for 90% and 95% of total variation in the Illinois population (Table 3). There was a significant difference among males from the Illinois population for 95% of total variation (Table 4). Therefore, it seems that one superimposing using all landmarks in a whole shape makes significant differences more difficult to recognize between populations or sexes. Analysis with modules separately, and thus different Procrustes, allows to observe differences among cranial structures. The fact that the results differ among structures may also show that there is some independency among body parts and could be considered as the first evidence of modularity.

The comparison of covariation patterns between the two populations was performed to investigate a robust development and understand functional association among structures composing the feeding skeletal system. Random skewers test and Mantel test showed that covariance matrices for the cranial anatomy, premaxillary, skull, dentary and subopercular did not differ significantly between the two populations (Table 6). Results from the first objective show that populations differ in size, thus covariation patterns among modules are also the same for large and small fishes. Even though the two populations were in different invaded environments, they covary in the same way, which suggests a developmental robustness (Jamniczky & Hallgrímsson, 2009; Armbruster *et al.*, 2014).

The third objective was to study integration in the two populations to determine if feeding skeletal system is modular or highly integrated. RV coefficient was significant for the association of all modules, except for the dermatocranium and parasphenoid association (Table 7). That is likely due to the mechanical and functional link among

these structures (Herring, 1993). The significance of the RV coefficient and the high value suggest an independency of modules in the cranial anatomy except for the neurocranium, suggesting modularity of the cranial anatomy of the Silver carp in the two populations.

The second method eliminating architectural constraints resulted in a lower RV coefficient value and only Hypothesis 1 is significant (Table 8). Thus, for the two other hypotheses, RV coefficients are not significant suggesting a low independency of the structures (Table 8). Significance of RV coefficient differs, and this is due to the method used, eliminating architectural constraints seems to eliminate artefactual significance observed in the first method. Eliminating architectural constraints allows reducing the number of landmarks and curves with several superimpositions. Combining results of the two methods, Hypothesis 1 is significant in the two analyses suggesting modularity (inferior and superior parts) and that the inferior (including premaxillary, dentary and subopercular) and superior (including skull) systems are integrated. We can suppose that the modularity of Silver carp cranial anatomy regarding the inferior and superior parts is caused by different functions of these parts during the feeding; the superior part is used for prehension, whereas the inferior part is used for chewing (Herring, 1993).

Independently, results are the same for the patterns of integration between the two populations; they do not differ between the two populations (Table 8, 9). This similarity indicates developmental robustness and that the same strategy is used by the two populations even if the environment is different. Moreover, associations between modules in both populations showed a strong integration between the structures of the inferior and superior parts. The two modules of the feeding skeletal system (i.e., inferior and superior structures) are integrated, likely owing to shared developmental, functional or genetic influences (Willmore *et al.*, 2008; Olson & Miller, 1999). It has been suggested that the integrated system favors canalisation for the species protection against environmental disturbances (Zakharov, 1992). Similarly, the evolution of integration could be an adaptation for environmental robustness (Armbruster *et al.*, 2014). The Silver carp is a specialist species, consuming mostly phytoplankton, and it is likely an advantage to have an integrated feeding skeletal system when just one prey is used (Riedl, 1978). Our

results support findings by Armbruster *et al.* (2014), stating that integrated functional parts represent coordinated variability (Armbruster *et al.*, 2014; Klingenberg, 2008), functional structures vary in the same way. Functional integration could be viewed as “an adaptation to increase evolvability by making the population more capable of evolving in likely directions of selection”, that could be an advantage in an invasion case (Armbruster *et al.*, 2014). As the ability to phenotypic plasticity, functional integration and variation of the development of the Silver carp are important element to take in account in the case of its North American invasion.

Study report diet variation among different Silver carp populations that suggests the possibility for structural variation (Williamson and Garvey, 2005). It could be interesting to study pharyngeal teeth shapes among these populations, as variation might be present in this structure. Indeed, the silver carp in the different populations seems to feed on invertebrate and detritus (Williamson and Garvey, 2005), and feeding on these preys does not require the same use of pharyngeal teeth. It was not possible to examine pharyngeal teeth because they are difficult to delimit properly on planar X-rays, in contrast to 3D CT-scan. Furthermore, studying more populations that have been separated for a longer time, and other systems would allow for a better understanding of the variation of developmental capacity in this invasive species.

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'objectif général de ce projet était d'étudier les variations du système squelettique alimentaire de la carpe argentée entre la population de la rivière Illinois et de la rivière Missouri en Illinois, aux États-Unis. Ces deux populations vivent dans des environnements où la carpe argentée est considérée comme envahissante. L'étude de la variation au sein de ces deux populations s'est concentrée sur la morphologie du système squelettique alimentaire. En effet, lors de l'invasion, des divergences de ressources alimentaires pourraient entraîner des variations de ce système entre les populations. Les variations de ce système sont régies par les capacités du développement et de variation de ce dernier. Afin d'étudier et de mieux comprendre le fonctionnement de cette espèce et pour répondre à l'objectif général, trois sous objectifs ont été réalisés. La présence ou l'absence d'allométrie a été étudiée dans le but de comprendre l'effet de la taille dans les populations. Par la suite, les patrons de covariation ont été comparés et étudiés entre la population du Missouri et de l'Illinois. Pour finir, les patrons d'intégration et de modularité ont été analysés et ont permis d'éclaircir les différents niveaux d'intégration présents dans le système squelettique alimentaire de la carpe argentée.

Dans un premier temps, la présence d'allométrie et de dimorphisme sexuel a été recherchée. Une différence de taille a été mise en évidence entre les deux populations : les individus de la population de l'Illinois sont plus grands. Cette différence de taille peut s'expliquer par le fait que la rivière de l'Illinois subi des activités multiples, tels que le tourisme et des transports commerciaux et agricoles, ce qui a augmenté la production de phytoplancton (Rolls *et al.*, 2012 ; Stuck *et al.*, 2015) et ainsi eu un effet positif sur le développement de la carpe argentée dans ce milieu. Les analyses ont d'abord été réalisées sur l'anatomie crânienne complète puis elles ont été réalisées ensuite sur les quatre structures séparément (soit prémaxillaire, crâne, dentaire et sous-opercule). Les résultats des analyses avec l'anatomie crânienne complète ont montré qu'il n'y avait pas d'allométrie, ni de dimorphisme sexuel à l'intérieur d'une population ni entre les deux populations (Tableaux 3, 4, 5). Les femelles du Missouri montrent une différence de taille

significative. Ce résultat suppose que de l'allométrie pourrait exister si la taille de l'échantillon était augmentée (Tableau 4). Cependant, les mêmes analyses ont été réalisées sur les structures du système squelettique isolées. L'élimination des contraintes architecturales a permis de mettre en évidence des différences supplémentaires. Le prémaxillaire présente des différences de forme entre les individus de la population de l'Illinois et ceux de la population du Missouri suggérant que l'allométrie est importante pour expliquer la variation de la forme du prémaxillaire entre les populations (Tableau 3). Le prémaxillaire est un os important lors de la prise de nourriture. Il est mobilisé lors de la préhension, ainsi une variation de sa forme pourrait être entraînée par la modification des proies capturées (Herring, 1993). De plus, les femelles de la population de l'Illinois montrent des différences significatives de la taille du prémaxillaire, de même que les mâles de la population du Missouri (Tableau 4). Ainsi, l'analyse détaillée des sexes et des populations semblent montrer que la variation de la taille du prémaxillaire retrouvée semble être présente chez les mâles de la population du Missouri. Aussi, l'analyse des structures séparées a aussi permis de mettre en évidence des différences pour le crâne, il y a un effet du sexe pour les analyses prenant en compte 95 % et 90 % de la variation totale dans la population de l'Illinois (Tableau 3). Ces derniers résultats semblent montrer que l'utilisation d'une seule superposition Procruste pour l'ensemble de l'anatomie crânienne rendrait les différences plus difficiles à mettre en évidence. De plus, l'élimination des contraintes architecturales par une analyse des structures séparées semble mettre en lumière certaines différences importantes. Ainsi, cela suggère qu'il est important de considérer les contraintes architecturales dans les analyses de morphométrie géométrique.

Dans un deuxième temps, les patrons de covariance ont été testés et comparés entre les populations. Les résultats ont montré qu'il n'y avait pas de différence entre les matrices de covariance des deux populations, ce qui signifie que malgré deux environnements de développement différents, les individus covarient de la même manière. Cela suggère fortement un développement robuste de ces populations de carpe argentée. La similitude des matrices de covariance entre les deux populations indique une variation phénotypique

non significativement différente et donc une similarité dans les patrons d'intégration, au niveau du système squelettique alimentaire des deux populations.

Dans un troisième temps, les patrons d'intégration ont été analysés afin de comprendre le fonctionnement du développement du système squelettique alimentaire et déterminer si le système est plutôt intégré ou modulaire. Les patrons d'intégration ont été testés à l'aide de trois hypothèses de modularité. La première hypothèse comportant les structures crâniennes supérieures (dermatocrâne et parasphénoïde) et les structures crâniennes inférieures (prémaxillaire, dentaire et sous-operculaire) comme deux modules. L'hypothèse 2 comprend trois modules : (1) le prémaxillaire, le dermatocrâne et le parasphénoïde ensemble, (2) le dentaire et (3) le sous operculaire. Puis la dernière hypothèse comprend cinq modules : (1) le prémaxillaire, (2) le dermatocrâne (3) le parasphénoïde, (4) le dentaire et (5) le sous operculaire. Les résultats ont montré qu'il n'y avait pas de différence entre les deux populations, les intervalles de confiance calculés avec les valeurs du coefficient RV, pour chaque association de modules, se chevauchent entre les deux populations. Les résultats de la première hypothèse pour les deux méthodes utilisées (c'est-à-dire avec ou sans les contraintes architecturales) montrent que les valeurs du coefficient RV sont élevées et significatives, indiquant deux modules.

Par la suite, les résultats concernant les deux autres hypothèses présentent des résultats divergents. La première méthode utilisée présente des coefficients RV élevées et significatifs pour l'ensemble des associations de modules suggérant une forte modularité du système. Contrairement, les résultats de la seconde méthode pour la deuxième et la troisième hypothèse présentent un coefficient RV non significatif indiquant un système fortement intégré. Les différences observées sont dues à la méthode utilisée ; en effet, l'élimination des contraintes architecturales par des analyses de Procrustes indépendantes par structures permet de réduire le nombre de landmarks et de courbes et de ce fait le nombre d'artéfacts.

La combinaison des résultats des deux méthodes semble montrer que les structures inférieures et supérieures de l'anatomie crânienne représentent des modules. La présence de modularité peut être due au fait que ces deux modules n'ont pas les mêmes fonctions

lors de la prise de nourriture, la partie supérieure possède un rôle de préhension alors que la partie inférieure sert plutôt à la mastication. En considérant les résultats de la seconde méthode éliminant les contraintes architecturales, les résultats des hypothèses 1 et 2 semblent montrer que les structures sont fortement intégrées entre elles. Ainsi, l'intégration de ces structures [parasphénoïde, dermatocrâne] et [prémaxillaire, dentaire et sous operculaire] est probablement dû au partage entre ces structures d'une influence développementale, fonctionnelle ou génétique (Willmore *et al.*, 2008 ; Olson & Miller, 1999). Les deux populations étudiées semblent utiliser la même stratégie, c'est-à-dire avec deux modules intégrés dans le but de se protéger contre les perturbations environnementales, possiblement rencontrées lors de l'invasion d'un nouveau milieu (Zakharov, 1992). La carpe argentée étant une espèce spécialiste, consommant du phytoplancton, n'avait probablement pas d'avantages à conserver beaucoup de possibilité de variation au niveau de son système squelettique alimentaire (Riedl, 1978). Dans ce sens, une étude sur des poissons de la famille des Characidae au Mexique a aussi rapporté la présence de module supérieur et inférieur au niveau du crâne chez *A. caballeroi*, qui est aussi une espèce spécialiste (Ornelas-Garcia *et al.*, 2017). Cette même étude présente l'absence de modularité chez *A. aeneus* l'espèce sœur étant une espèce généraliste (Ornelas-Garcia *et al.*, 2017).

Ainsi, les études ayant reporté des variations du régime alimentaire de plusieurs populations de carpe argentée envahissantes seraient intéressantes à reprendre mais en considérant les dents pharyngiennes. En effet, ce sont des structures utilisées lors de l'alimentation et l'abrasion des aliments provoque des variations de leur morphologie selon le type de proie sélectionnées. Il serait intéressant d'investiguer la présence de ces variations chez les populations de carpe argentée à partir de la dissection ou de la morphométrie en 3D de ces structures. L'étude de ces structures en morphométrie 2D à partir de radiographie est trop imprécise car ce sont des structures très mobiles. De même, l'étude du système squelettique en morphométrie géométrique à partir de radiographies réduit la précision des analyses du fait de la superposition des éléments ; il serait donc intéressant d'augmenter la précision en utilisant des techniques en 3D afin d'isoler les

structures et d'obtenir des informations plus précises de la forme. De plus, une analyse à grande échelle du réseau hydrologique envahis par la carpe argentée serait essentielle pour confirmer et augmenter la compréhension de la capacité de variation de cette espèce. De plus, cela permettrait d'améliorer les connaissances sur son développement. L'analyse se composerait d'environnements plus extrêmes, ainsi que de l'aire d'introduction originale de la carpe argentée, d'un nombre plus élevé de populations et d'individus par échantillons ainsi qu'en prenant en compte des populations séparées par une période de temps plus importante car la variation entre les populations est peut-être mise en place à plus long terme. Et pour finir, il serait intéressant d'effectuer ces analyses sur d'autre système anatomique de la carpe argentée afin de mieux caractériser son développement.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Asian Carp Regional Coordinating Committee. ACRCC. Asian Carp action plan. (2016).
- Armbruster, W. S., Pélabon, C., Bolstad, G. H., & Hansen, T. F. Integrated phenotypes: understanding trait covariation in plants and animals. *Phil. Trans. R. Soc. B* **369**, e20130245 (2014).
- Bøhn, T., Terje Sandlund, O., Amundsen, P. & Primicerio, R. Rapidly changing life history during invasion. *Oikos* **106**, 138–150 (2004).
- Bookstein, F. L. Landmark methods for forms without landmarks: morphometrics of group differences in outline shape. *Med. Image Anal.* **1**, 225-243 (1997).
- Calkins, H. A., Tripp, S. J. & Garvey, J. E. Linking silver carp habitat selection to flow and phytoplankton in the Mississippi River. *Biol. Invasions* **14**, 949–958 (2012).
- Chapman, D. C. & George, A. E. Developmental rate and behavior of early life stages of Bighead Carp and Silver Carp. *Scient. Investig. Rep.* **10**, 2011-5076 (2011).
- Cheverud, J. M. Developmental integration and the evolution of pleiotropy. *Amer. Zool.* **36**, 44-50 (1996).
- Cheverud, J. M. Phenotypic, genetic, and environmental morphological integration in the cranium. *Evolution* **36**, 499-516 (1982).
- Chick, J. H. & Pegg, M. A. C. Invasive carp in the Mississippi river basin. *Science* **292**, 2250–2251 (2001).
- Claude, J. Morphometrics with R. Springer Science & Business Media (2008).
- Claude, J., Paradis, E., Tong, H., & Auffray, J. C. A geometric morphometric assessment of the effects of environment and cladogenesis on the evolution of the turtle shell. *Biol. J. Linn. Soc.* **79**, 485-501 (2003).
- Conover, G., Simmons, R. & Whalen, N. Management and control plan for Bighead, Black, Grass, and Silver Carps in the United States. *Asian Carp Work. Group, Aquat. Nuis. Species Task Force* 1–223 (2007).
- Coulter, A. A., Keller, D., Amberg, J. J., Bailey, E. J. & Goforth, R. R. Phenotypic plasticity in the spawning traits of bigheaded carp (*Hypophthalmichthys* spp.) in novel

- ecosystems. *Freshw. Biol.* **58**, 1029–1037 (2013).
- DeGrandchamp, K. L., Garvey, J. E. & Colombo, R. E. Movement and habitat selection by invasive Asian Carps in a large river. *Trans. Am. Fish. Soc.* **137**, 45–56 (2008).
- Dryden, I. L., & Mardia, K. V. *Statistical Shape Analysis* (Vol. 4). Chichester, Wiley (1998).
- Feiner, Z. S., Aday, D. D. & Rice, J. A. Phenotypic shifts in white perch life history strategy across stages of invasion. *Biol. Invasions* **14**, 2315–2329 (2012).
- Hallgrímsson, B., Jammiczky, H., Young, N. M., Rolian, C., Parsons, T. E., Boughner, J. C., & Marcucio, R. S. Deciphering the palimpsest: studying the relationship between morphological integration and phenotypic covariation. *Evol. Biol.* **36**, 355–376 (2009).
- Hansen, T. F., & Houle, D. Evolvability, stabilizing selection, and the problem of stasis. In: *The Evolutionary Biology of Complex Phenotypes* (M. Pigliucci & K. Preston, eds). Oxford University Press, Oxford, pp. 130–150 (2004).
- Hayer, C., Graeb, B. & Bertrand, K. Adult, juvenile and young-of-year bighead, *Hypophthalmichthys nobilis* (Richardson, 1845) and silver carp, *H. molitrix* (Valenciennes, 1844) range expansion on the northwestern front of the invasion in North America. *BioInvasions Rec.* **3**, 283–289 (2014).
- Herring, S. W. Epigenetic, and functional influences on skull growth. *Development* **1**, 153–206 (1993).
- Hôrková, K. & Kováč, V. Different life-histories of native and invasive *Neogobius melanostomus* and the possible role of phenotypic plasticity in the species invasion success. *Knowl. Manag. Aquat. Ecosyst.* **412**, 1 (2014).
- Jammiczky, H. A., & Hallgrímsson, B. A comparison of covariance structure in wild and laboratory murid crania. *Evolution* **63**, 1540–1556 (2009).
- Klingenberg, C. P. Morphological integration and developmental modularity. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **39**, 115–132 (2008).
- Klingenberg, C. P., Barluenga, M., & Meyer, A. Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution* **56**, 1909–1920 (2002).
- Klingenberg, C. P., & McIntyre, G. S. Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution* **52**, 1363–1375 (1998).
- Kolar, C. S. Ecological predictions and risk assessment for alien fishes in North America.

- Science* **298**, 1233–1236 (2002).
- Kolar, C., Chapman, D. C., Courtenay Jr, W. R., Housel, C. M., Williams, J. D., & Jennings, D. P. Asian Carps of the genus *Hypophthalmichthys* (Pisces, Cyprinidae) -- A biological synopsis and environmental risk assessment. *Environ. Res.* **183** (2005).
- Kolar, C. S. & Lodge, D. M. Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends Ecol. Evol.* **16**, 199–204 (2001).
- Lu, M. & Xie, P. Impacts of filter-feeding fishes on the long-term changes of crustacean zooplankton in a eutrophic subtropical Chinese lake. *J. Freshw. Ecol.* **16**, 219–228 (2001).
- Monteiro, L. R., Bonato, V., & Dos Reis, S. F. Evolutionary integration and morphological diversification in complex morphological structures: mandible shape divergence in spiny rats (Rodentia, Echimyidae). *Evol. & Dev.* **7**, 429-439 (2005).
- Nelson, J. S., T.C. Grande, & M. V. W. Fishes of the World. John Wiley & Sons, NY (2016).
- Olson, E. C., & Miller, R. L. Morphological Integration. University of Chicago Press (1999).
- Ornelas-García, C. P., Bautista, A., Herder, F., & Doadrio, I. Functional modularity in lake-dwelling characin fishes of Mexico. *PeerJ*, **5**, 38-51 (2017).
- Park, P. J., Aguirre, W. E., Spikes, D. A. & Miyazaki, J. M. Landmark-based geometric morphometrics: what fish shapes can tell us about fish evolution. *Test. Stud. Lab. Teach. Proc. Assoc. Biol. Lab. Educ.* **34**, 361–371 (2013).
- Parry, G. D. The meanings of r- and K-selection. *Oecologia* **48**, 260–264 (2009).
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. (2018).
- Revell, L. J. Phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods Ecol. Evol.* **3**, 217-223 (2012).
- Riedl, R. Order in Living Organisms: Systems Analysis of Evolution. John Wiley & Sons (1978).
- Robert, P., & Escoufier, Y. A unifying tool for linear multivariate statistical methods: the RV-coefficient. *Appl. Stat.* **25**, 257-265 (1976).
- Rohlf, F. J. tpsDig, digitize landmarks and outlines, version 2.17 New York: Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook (2013).
- Rohlf, F. J., & Marcus, L. F. A revolution in morphometrics. *Trends Ecol. Evol.* **8**, 129–132

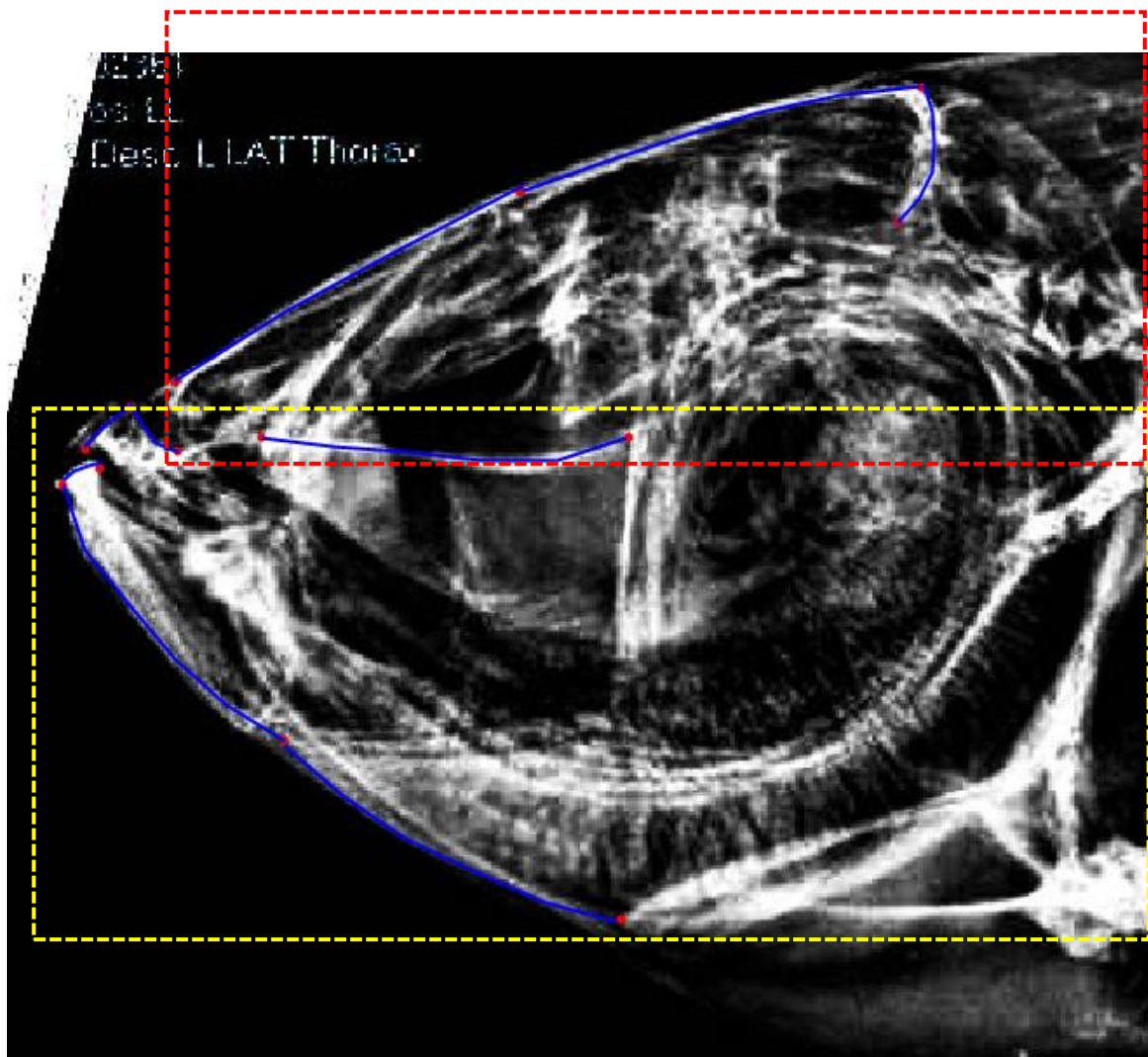
- (1993).
- Rolls, R. J., Leigh C., Sheldon F. Mechanistic effects of low-flow hydrology on riverine ecosystems: ecological principles and consequences of alteration. *Freshw. Sci.* **31**, 1163–1186 (2012).
- Sakai, A. K., Allendorf, F. W., Holt, J. S., Lodge, D. M., Molofsky, J., With, K. A., & McCauley, D. E. The population biology of invasive species. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **32**, 305–332 (2001).
- Sampson, S. J., Chick, J. H. & Pegg, M. A. Diet overlap among two Asian carp and three native fishes in backwater lakes on the Illinois and Mississippi rivers. *Biol. Invasions* **11**, 483–496 (2009).
- Simon, H. A. (1965). The architecture of complexity. *Gen. Syst.* **10**, 63-76 (1965).
- Smith, T. B. & Skúlason, S. Evolutionary significance of resource polymorphisms in fishes, amphibians, and birds. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **27**, 111–133 (1996).
- Stuck, J.G, Porreca A. P., Wahl D. H., & Colombo R. E. Contrasting population demographics of invasive silver carp between an impounded and free-flowing river. *N. Amer. J. Fish. Manag.* **35**, 114-122 (2015).
- Wagner, G. P. Homologues, natural kinds and the evolution of modularity. *Amer. Zool.* **36**, 36-43 (1996).
- Wainwright, P. C., Osenberg, C. W. & Mittelbach, G. G. Trophic Polymorphism in the Pumpkinseed Sunfish (*Lepomis gibbosus* Linnaeus): Effects of environment on ontogeny. *Funct. Ecol.* **5**, 40-55 (1991).
- West-Eberhard, M. J. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **20**, 249-278 (1989).
- Williamson, C. J. & Garvey, J. E. Growth, fecundity, and diets of newly established Silver Carp in the middle Mississippi River. *Trans. Am. Fish. Soc.* **134**, 1423–1430 (2005).
- Willmore, K. E., Young, N. M., & Richtsmeier, J. T. Phenotypic variability: its components, measurement and underlying developmental processes. *Evol. Biol.* **34**, 99-120 (2007).
- Wimberger, P. H. Plasticity of fish body shape. The effects of diet, development, family and age in two species of *Geophagus* (Pisces: Cichlidae). *Biol. J. Linn. Soc.* **45**, 197–218 (1992).
- Yezerinac, S. M., Loughheed, S. C., & Handford, P. Measurement error and morphometric studies: statistical power and observer experience. *Syst. Biol.* **41**, 471-482 (1992).

Zakharov, V. M. Population phenogenetics: analysis of developmental stability in natural populations. *Acta Zool. Fenn.* **191**, 7-30 (1992).

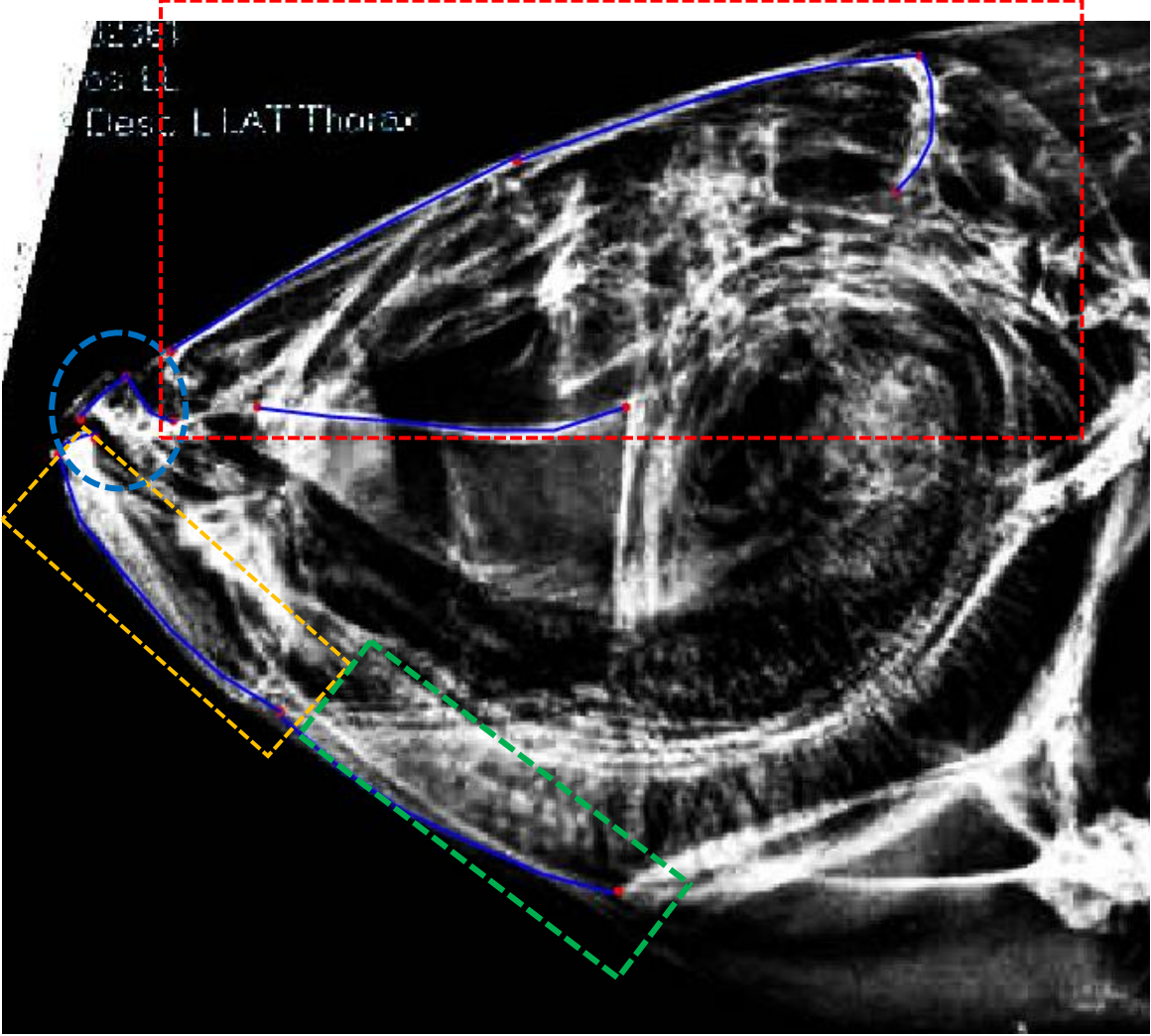
Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., & Sheets, H. D. Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer. *Elsevier*, San Diego, CA (2012).

ANNEXE

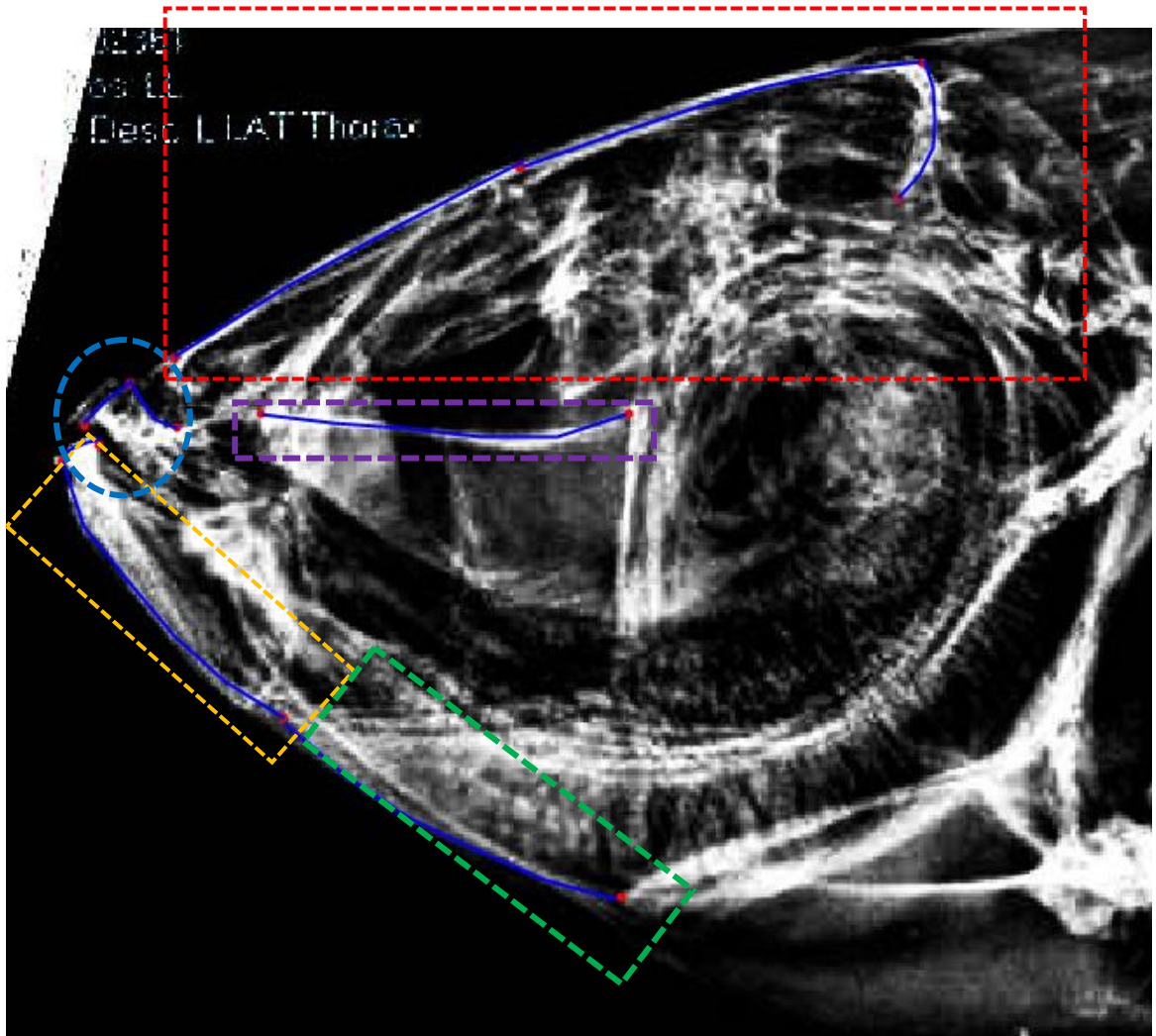
*Annexe 1: Scheme of modules used for the first hypothesis of modularity of the feeding skeletal system of *Hypophthalmichthys molitrix* (planar X-ray of the head) (red : dermatocranium and parasphenoid ; yellow: premaxillary, dentary and subopercular).*



Annexe 2: Scheme of modules used for the second hypothesis of modularity of the feeding skeletal system of Hypophthalmichthys molitrix (planar X-ray of the head) (red: dermatocranium and parasphenoid; blue circle: premaxillary; yellow: dentary and green: subopercular).



*Annexe 3: Scheme of modules used for the third hypothesis of modularity of the feeding skeletal system of *Hypophthalmichthys molitrix* (planar X-ray of the head) (red: dermatocranium; purple: parasphenoid; blue circle: premaxillary; yellow: dentary and green: subopercular).*



Annexe 4: Results for each hypothesized module for the differences between the two populations for size and sex size dimorphism and the interaction between sex and population.

	Size	Sex size dimorphism	Population:Sex
Premaxillary	F_{1,55} = 10.59; p = 0.002	F _{1,55} = 0.379; p = 0.54	F _{1,55} = 1.937; p = 0.169
Skull	F_{1,55} = 76.35; p = 0.001	F _{1,55} = 0.051; p = 0.8201	F _{1,55} = 0.065; p = 0.7997
Dentary	F_{1,55} = 37.06; p = 0.001	F _{1,55} = 0.288; p = 0.59	F _{1,55} = 0,0698; p = 0.79
Subopercular	F_{1,55} = 34.67; p = 0.001	F _{1,55} = 0.0008; p = 0.976	F _{1,55} = 0.208; p = 0.65

- F values correspond to the approximative F.
- Boldface indicates significant results

Annexe 5: Supplementary materials for the bivariate plot of PCA for each module hypothesized of Illinois and Missouri populations.

PC1-2 of the superimposed coordinates explained 67% of the total variation for the premaxillary. The Illinois and Missouri populations are not clearly distinct graphically on PC1-2 (Figure 3A). The Missouri and Illinois populations are mixed on PC1 and PC2. Furthermore, shape does not appear to be distinct between males and females (Figure 3A). Visual analysis of the maximum and minimum extreme shape on PC1 shows a low variation of the angle formed by the central point (Figure 3 B). On PC2, variation between the maximum shape appears to be small (Figure 3 C).

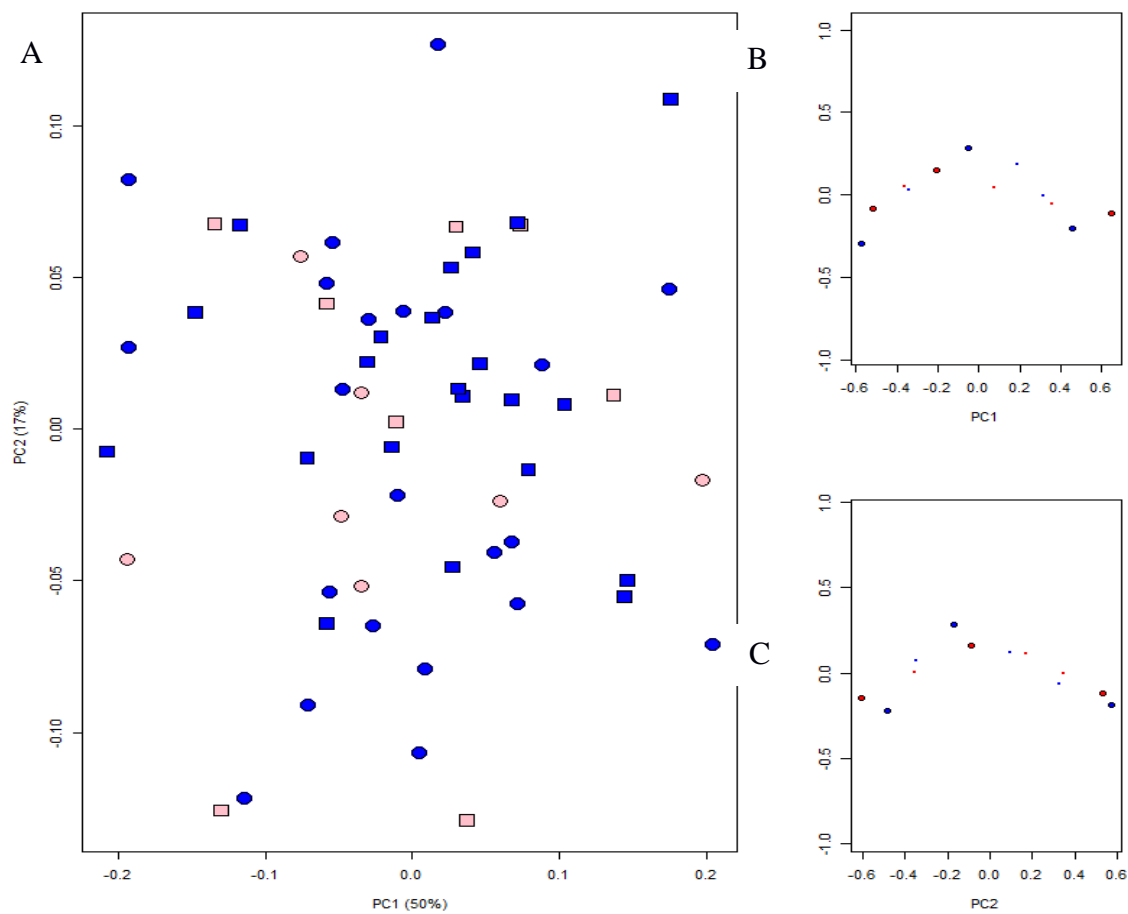


Figure 3: A. Bivariate plot of PCA premaxillary of Illinois (circle) and Missouri (square) populations and sex (blue: male and pink: female) representing variation on PC1 and PC2 axes. B-C. Maximum (Red) and minimum (Blue) shape on PC1 (B) and PC2 (C) axes.

Graphically, it can be assumed that Illinois and Missouri skulls are not distinct on PC1 (Figure 4 A). Furthermore, sex does not seem to be distinct between males and females (Figure 4 A). Visual analysis of the maximum and minimum extreme shape of the skull on PC1 does not indicate remarkable variation (Figure 4 B). No variation between the maximum shape is observed on PC2 (Figure 4 C).

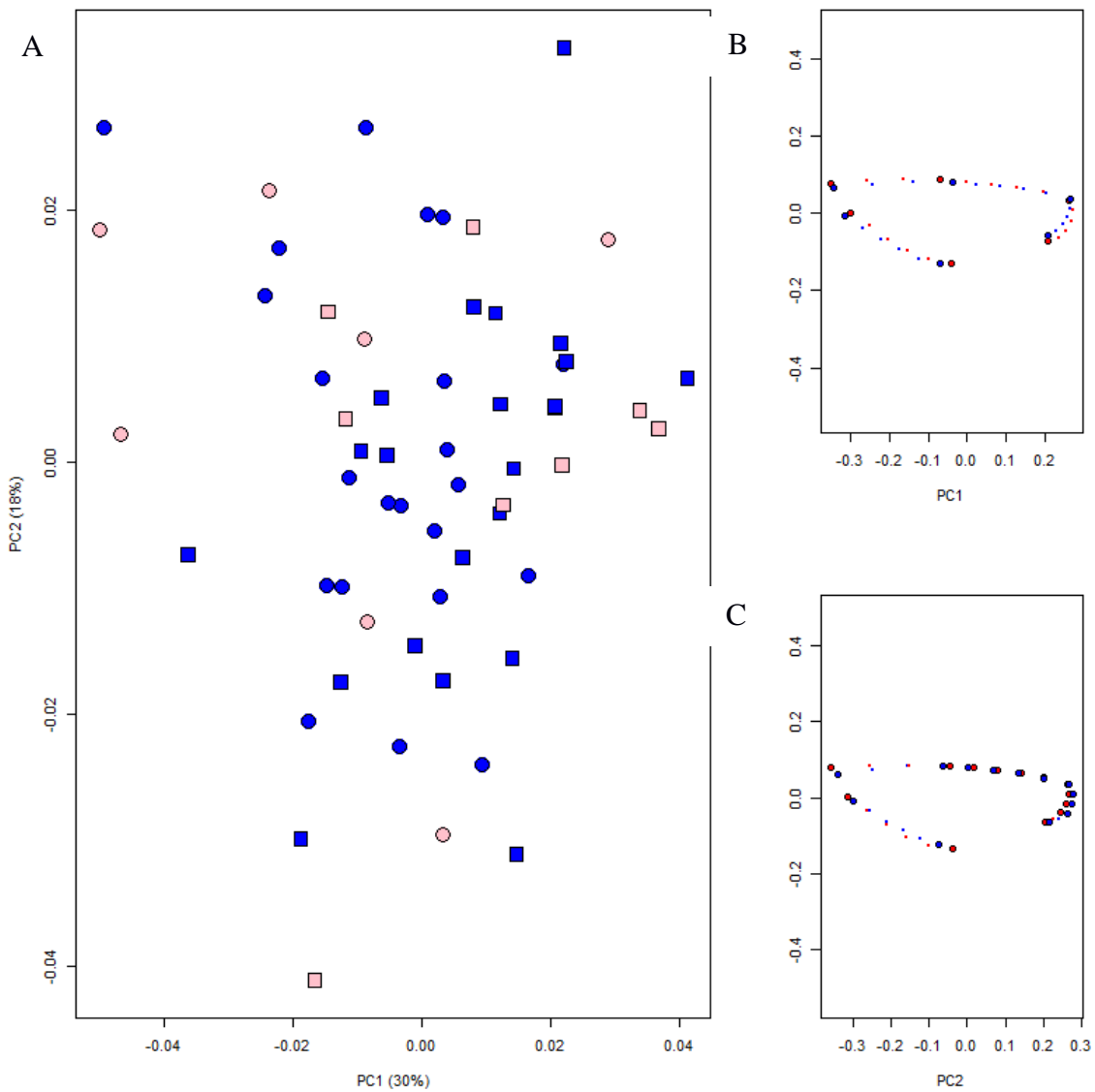


Figure 4: A. Bivariate plot of PCA skull of Illinois (circle) and Missouri (square) and sex (blue: male and pink: female) representing variation on PC1 and PC2 axes. B-C. Maximum (Red) and minimum (Blue) shape on PC1 (B) and PC2 (C) axes.

The Illinois and Missouri dentaries are not distinct graphically on PC1 (Figure 5A). Furthermore, sex does not appear to be distinct between males and females (Figure 5A).

However, two groups are present: the left-side group is composed of six individuals most likely owing to their big size. Visual analyses of the extreme shape maximum and minimum on PC1 show no remarkable variation (Figure 5 B). Variation between the maximum shape is not observed on PC2 (Figure 5 C).

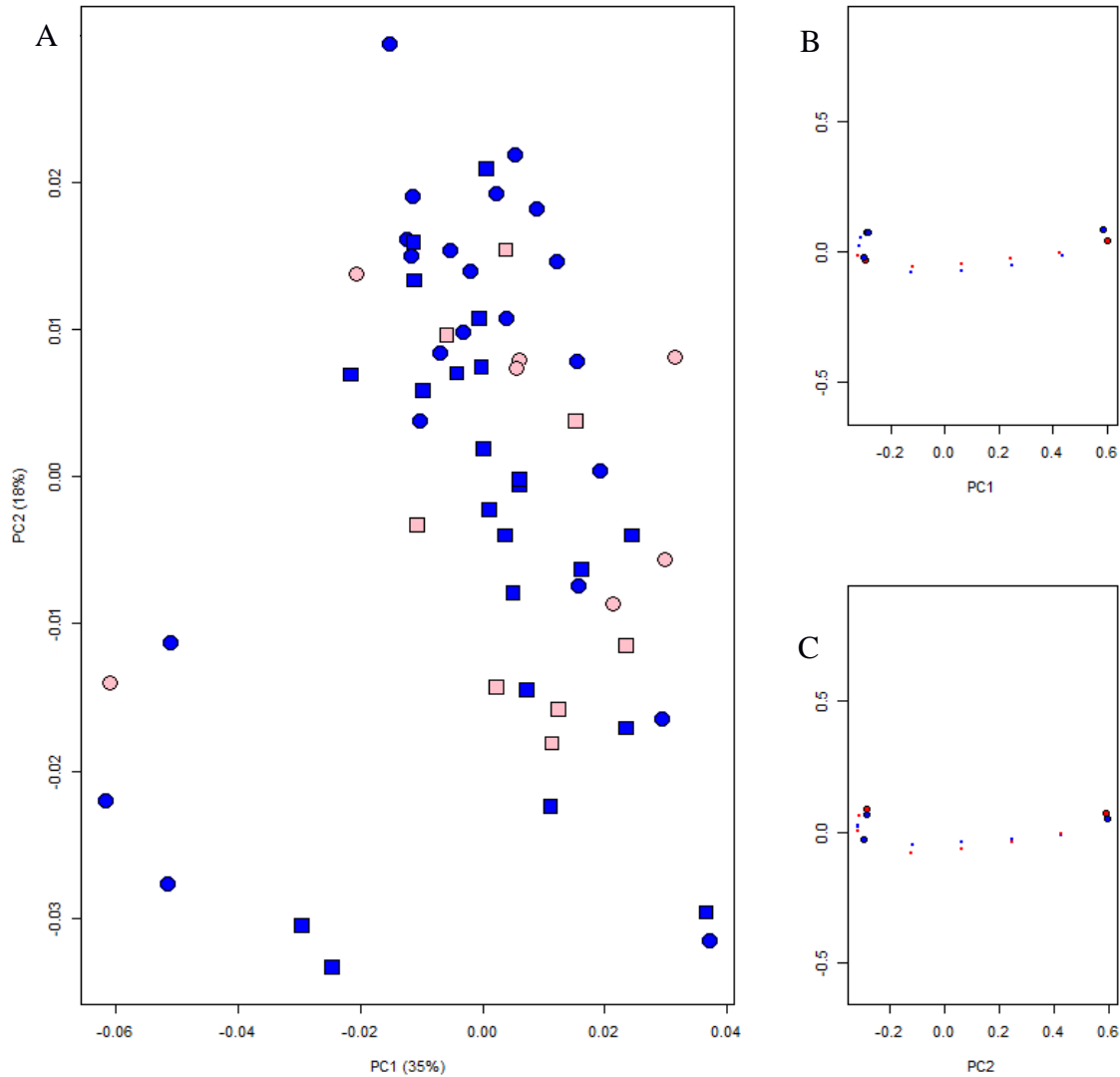


Figure 5: A. Bivariate plot of PCA dentary of Illinois (circle) and Missouri (square) and sex (blue: male and pink: female) representing variation on PC1 and PC2 axes. B-C. Maximum (Red) and minimum (Blue) shape on PC1 (B) and PC2 (C) axes.

The Illinois and Missouri suboperculars are not clearly distinct graphically on PC1 (Figure 6A). In addition, sex is not distinct between males and females (Figure 6 A). Visual analysis of the maximum and minimum extreme shape on PC1 shows no remarkable variation (Figure 6B). Variation between the maximum shape is not observed on PC2 (Figure 6C).

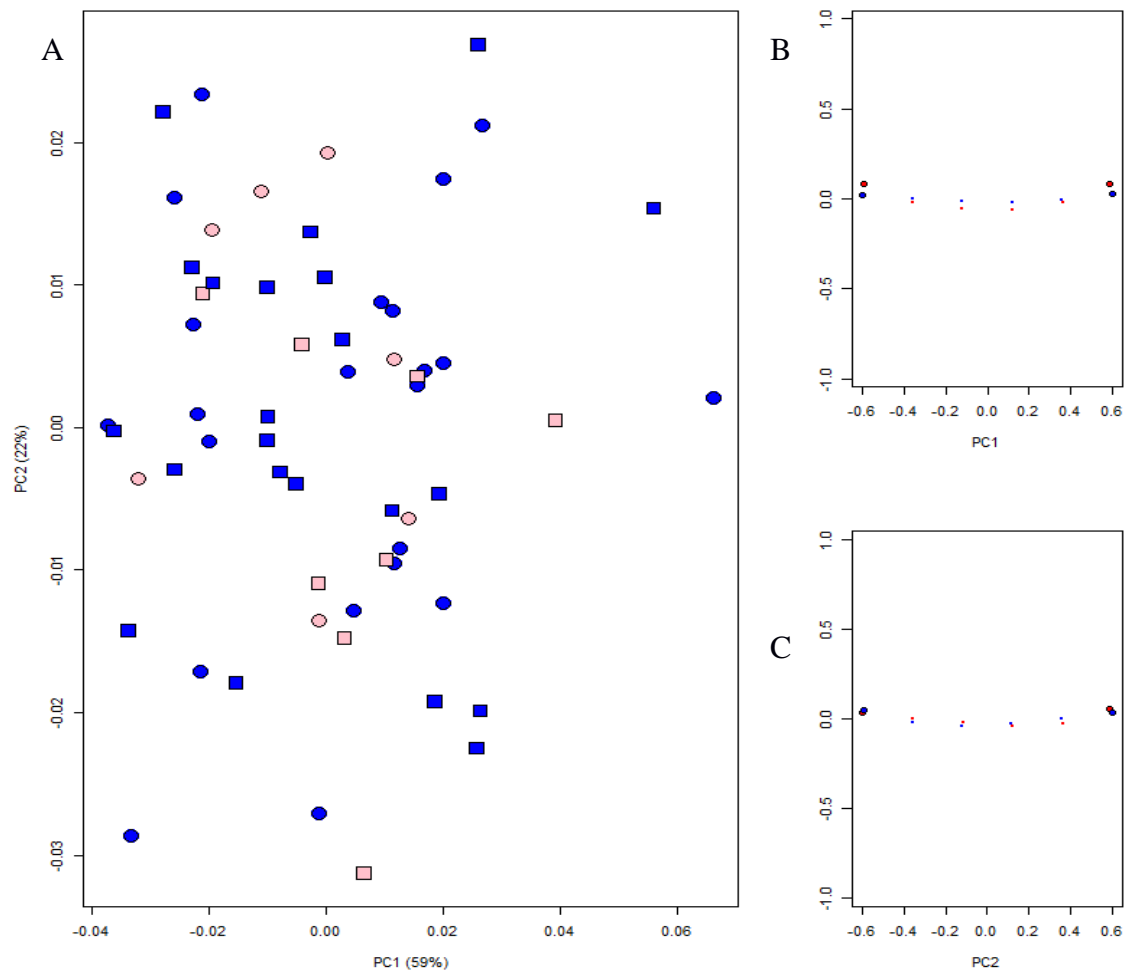


Figure 6: A. Bivariate plot of PCA subopercular of Illinois (circle) and Missouri (square) and sex (blue: male and pink: female) representing variation on PC1 and PC2 axes. B-C. Maximum (Red) and minimum (Blue) shape on PC1 (B) and PC2 (C) axes.

Annexe 6: Results of multivariate regression analysis of allometry and sexual dimorphism of cranial anatomy and hypothesized module on each population separately (Illinois and Missouri) using the PCA axes that represented 90%, 95% and 75% of the total variation.

Whole cranium			
Illinois			
	95%	90%	75%
Size	$F_{1,14} = 0.75099$; $p = 0.6986$	$F_{1,11} = 1.0039$; $p = 0.4857$	$F_{1,7} = 0.91592$; $p = 0.5156$
Sex	$F_{1,14} = 1.51875$; $p = 0.2370$	$F_{1,11} = 1.9462$; $p = 0.1147$	$F_{1,7} = 0.58592$; $p = 0.7592$
Size:Sex	$F_{1,14} = 1.07781$; $p = 0.4532$	$F_{1,11} = 1.3082$; $p = 0.3082$	$F_{1,7} = 2.05114$; $p = 0.1010$
Missouri			
Size	$F_{1,14} = 1.20602$; $p = 0.3706$	$F_{1,10} = 1.32296$; $p = 0.2941$	$F_{1,5} = 0.43859$; $p = 0.8167$
Sex	$F_{1,14} = 0.64872$; $p = 0.7840$	$F_{1,10} = 0.47688$; $p = 0.8827$	$F_{1,5} = 0.25804$; $p = 0.9311$
Size:Sex	$F_{1,14} = 0.70965$; $p = 0.7339$	$F_{1,10} = 0.66267$; $p = 0.7430$	$F_{1,5} = 0.95070$; $p = 0.4686$
Premaxillary			
Illinois			
	95%	90%	75%
Size	$F_{1,5} = 3.5802$; $p = 0.01$	$F_{1,4} = 3.8112$; $p = 0.01$	$F_{1,2} = 5.4790$; $p = 0.01$
Sex	$F_{1,5} = 0.4287$; $p = 0.8234$	$F_{1,4} = 0.4907$; $p = 0.7425$	$F_{1,2} = 0.5418$; $p = 0.5886$
Size:Sex	$F_{1,5} = 1.2420$; $p = 0.3251$	$F_{1,4} = 1.6252$; $p = 0.2034$	$F_{1,2} = 1.4709$; $p = 0.2496$
Missouri			
Size	$F_{1,5} = 3.3401$; $p = 0.02$	$F_{1,4} = 3.6111$; $p = 0.02$	$F_{1,2} = 6.9767$; $p = 0.003$
Sex	$F_{1,5} = 0.1425$; $p = 0.9802$	$F_{1,4} = 0.1782$; $p = 0.9474$	$F_{1,2} = 0.3053$; $p = 0.7396$
Size:Sex	$F_{1,5} = 0.9960$; $p = 0.4429$	$F_{1,4} = 0.2282$; $p = 0.9198$	$F_{1,2} = 0.4668$; $p = 0.6323$
Skull			
Illinois			
	95%	90%	75%
Size	$F_{1,6} = 0.7900$; $p = 0.5882$	$F_{1,5} = 0.6839$; $p = 0.6407$	$F_{1,2} = 0.8767$; $p = 0.4290$
Sex	$F_{1,6} = 3.6712$; $p = 0.01$	$F_{1,5} = 4.5592$; $p = 0.005$	$F_{1,2} = 1.1885$; $p = 0.3220$
Size:Sex	$F_{1,6} = 0.7546$; $p = 0.6133$	$F_{1,5} = 0.9274$; $p = 0.4830$	$F_{1,2} = 2.293$; $p = 0.1024$
Missouri			
Size	$F_{1,10} = 0.7720$; $p = 0.6541$	$F_{1,7} = 1.0568$; $p = 0.4253$	$F_{1,4} = 0.4788$; $p = 0.7509$
Sex	$F_{1,10} = 0.3275$; $p = 0.9615$	$F_{1,7} = 0.4729$; $p = 0.8427$	$F_{1,4} = 0.4757$; $p = 0.7531$
Size:Sex	$F_{1,10} = 0.7645$; $p = 0.6600$	$F_{1,7} = 1.0375$; $p = 0.4368$	$F_{1,4} = 1.3903$; $p = 0.2684$
Dentary			
Illinois			
	95%	90%	75%
Size	$F_{1,8} = 2.6871$; $p = 0.03$	$F_{1,6} = 3.1647$; $p = 0.02$	$F_{1,3} = 0.7620$; $p = 0.5269$
Sex	$F_{1,8} = 0.8364$; $p = 0.5831$	$F_{1,6} = 1.090$; $p = 0.4015$	$F_{1,3} = 2.3057$; $p = 0.1034$
Size:Sex	$F_{1,8} = 1.060$; $p = 0.4308$	$F_{1,6} = 1.5184$; $p = 0.223$	$F_{1,3} = 0.8755$; $p = 0.4681$
Missouri			
Size	$F_{1,8} = 1.1368$; $p = 0.3842$	$F_{1,7} = 0.8362$; $p = 0.5703$	$F_{1,4} = 1.3997$; $p = 0.2654$
Sex	$F_{1,8} = 0.4296$; $p = 0.8887$	$F_{1,7} = 0.4739$; $p = 0.8420$	$F_{1,4} = 0.4329$; $p = 0.7834$
Size:Sex	$F_{1,8} = 0.3810$; $p = 0.9176$	$F_{1,7} = 0.4464$; $p = 0.8610$	$F_{1,4} = 0.5441$; $p = 0.7050$
Subopercular			
Illinois			
	95%	90%	75%
Size	$F_{1,4} = 1.2583$; $p = 0.3198$	$F_{1,3} = 1.3529$; $p = 0.2820$	$F_{1,2} = 0.5643$; $p = 0.5761$
Sex	$F_{1,4} = 0.6326$; $p = 0.6445$	$F_{1,3} = 0.4410$; $p = 0.7259$	$F_{1,2} = 1.1083$; $p = 0.3464$
Size:Sex	$F_{1,4} = 0.3343$; $p = 0.8519$	$F_{1,3} = 0.3781$; $p = 0.7696$	$F_{1,2} = 0.5426$; $p = 0.5881$
Missouri			
Size	$F_{1,5} = 0.8852$; $p = 0.5075$	$F_{1,4} = 1.1443$; $p = 0.3608$	$F_{1,2} = 0.4497$; $p = 0.6428$
Sex	$F_{1,5} = 0.6481$; $p = 0.6659$	$F_{1,4} = 0.7266$; $p = 0.5828$	$F_{1,2} = 0.9344$; $p = 0.4061$
Size:Sex	$F_{1,5} = 0.4383$; $p = 0.8169$	$F_{1,4} = 0.2889$; $p = 0.8821$	$F_{1,2} = 0.2564$; $p = 0.7758$

- F values correspond to the approximative F.

Annexe 7: Relationship of shape and size of cranial anatomy and hypothesized module for each sex and population using the PCA axes that represented 95%, 90%, and 75% of the total variation.

Whole cranium				
Male			Female	
Size	Illinois	Missouri	Illinois	Missouri
95%	$F_{1,12} = 0.4574$; p = 0.8965	$F_{1,12} = 0.7671$; p = 0.6726	$F_{1,5} = 4.0501$; p = 0.3597	$F_{1,6} = 2.0807$; p = 0.03
90%	$F_{1,10} = 0.6562$; p = 0.7425	$F_{1,9} = 1.1151$; p = 0.4203	$F_{1,4} = 5.6792$; p = 0.1553	$F_{1,5} = 2.0807$; p = 0.3557
75%	$F_{1,6} = 0.4627$; p = 0.8251	$F_{1,5} = 1.1013$; p = 0.3978	$F_{1,3} = 0.1514$; p = 0.9223	$F_{1,3} = 0.1351$; p = 0.9341
Premaxillary				
Male			Female	
Size	Illinois	Missouri	Illinois	Missouri
95%	$F_{1,5} = 2.404$; p = 0.0829	$F_{1,5} = 3.521$; p = 0.02	$F_{1,4} = 40.615$; p = 0.02	$F_{1,5} = 0.43309$; p = 0.8051
90%	$F_{1,4} = 2.5591$; p = 0.076	$F_{1,4} = 2.9525$; p = 0.05	$F_{1,3} = 8.8824$; p = 0.03	$F_{1,4} = 0.6649$; p = 0.6579
75%	$F_{1,2} = 2.9545$; p = 0.076	$F_{1,2} = 5.9634$; p = 0.009	$F_{1,2} = 11.26$; p = 0.02	$F_{1,2} = 0.9460$; p = 0.4483
Skull				
Male			Female	
Size	Illinois	Missouri	Illinois	Missouri
95%	$F_{1,10} = 0.6853$; p = 0.7203	$F_{1,9} = 0.8625$; p = 0.5794	$F_{1,4} = 2.6516$; p = 0.2921	$F_{1,5} = 1.1848$; p = 0.5167
90%	$F_{1,8} = 0.6480$; p = 0.7263	$F_{1,7} = 0.9557$; p = 0.4974	$F_{1,3} = 0.2855$; p = 0.8346	$F_{1,4} = 2.15$; p = 0.2778
75%	$F_{1,4} = 1.4606$; p = 0.2577	$F_{1,4} = 1.5274$; p = 0.2388	$F_{1,2} = 0.3761$; p = 0.7085	$F_{1,3} = 0.1581$; p = 0.9192
Dentary				
Male			Female	
Size	Illinois	Missouri	Illinois	Missouri
95%	$F_{1,8} = 2.8619$; p = 0.04	$F_{1,7} = 0.4707$; p = 0.8401	$F_{1,4} = 6.056$; p = 0.1467	$F_{1,5} = 0.7775$; p = 0.6457
90%	$F_{1,6} = 2.5472$; p = 0.06	$F_{1,6} = 0.4613$; p = 0.8261	$F_{1,3} = 7.2162$; p = 0.06	$F_{1,4} = 1.3394$; p = 0.4219
75%	$F_{1,3} = 0.7676$; p = 0.53	$F_{1,4} = 0.3415$; p = 0.8461	$F_{1,2} = 2.1794$; p = 0.229	$F_{1,3} = 2.3267$; p = 0.2162
Subopercular				
Male			Female	
Size	Illinois	Missouri	Illinois	Missouri
95%	$F_{1,5} = 0.9235$; p = 0.4911	$F_{1,5} = 1.2988$; p = 0.3131	$F_{1,4} = 3.779$; p = 0.220	$F_{1,5} = 0.073$; p = 0.9904
90%	$F_{1,4} = 1.2048$; p = 0.3449	$F_{1,4} = 1.5159$; p = 0.242	$F_{1,3} = 0.90421$; p = 0.532	$F_{1,4} = 0.1305$; p = 0.9609
75%	$F_{1,3} = 1.3108$; p = 0.3016	$F_{1,3} = 2.1402$; p = 0.1307	$F_{1,2} = 0.0622$; p = 0.9406	$F_{1,3} = 0.2217$; p = 0.8769

- F values correspond to the approximative F.

Annexe 8: Results of multivariate model of cranial anatomy and hypothesized module with population (Illinois and Missouri), sex, size and their interactions using the PCA axes that represented 90%, 95% and 75% of the total variation.

Whole cranium			
Variation	95%	90%	75%
Size	$F_{1,17} = 1.0677$; $p = 0.4190$	$F_{1,12} = 1.4187$; $p = 0.1978$	$F_{1,7} = 0.5923$; $p = 0.7586$
Sex	$F_{1,17} = 0.5797$; $p = 0.8843$	$F_{1,12} = 0.8805$; $p = 0.5726$	$F_{1,7} = 0.8800$; $p = 0.5297$
Population	$F_{1,17} = 3.0299$; $p = 0.003$	$F_{1,12} = 4.5213$; $p = 0.001$	$F_{1,7} = 3.3382$; $p = 0.005$
Size:Sex	$F_{1,17} = 0.8265$; $p = 0.6544$	$F_{1,12} = 0.7582$; $p = 0.6876$	$F_{1,7} = 0.7501$; $p = 0.6313$
Size:Population	$F_{1,17} = 0.6655$; $p = 0.8134$	$F_{1,12} = 0.4524$; $p = 0.9302$	$F_{1,7} = 0.2844$; $p = 0.9567$
Sex:Population	$F_{1,17} = 1.5176$; $p = 0.1452$	$F_{1,12} = 1.5133$; $p = 0.1597$	$F_{1,7} = 0.4160$; $p = 0.8873$
Size:Sex:Population	$F_{1,17} = 1.2640$; $p = 0.2708$	$F_{1,12} = 1.9037$; $p = 0.0636$	$F_{1,7} = 1.6214$; $p = 0.1539$
Premaxillary			
Size	$F_{1,5} = 7.0479$; $p = 0.001$	$F_{1,4} = 6.1366$; $p = 0.001$	$F_{1,3} = 7.2938$; $p = 0.001$
Sex	$F_{1,5} = 0.4739$; $p = 0.7938$	$F_{1,4} = 0.4689$; $p = 0.7582$	$F_{1,3} = 0.5203$; $p = 0.6703$
Population	$F_{1,5} = 3.8346$; $p = 0.005$	$F_{1,4} = 4.5155$; $p = 0.003$	$F_{1,3} = 4.6800$; $p = 0.006$
Size:Sex	$F_{1,5} = 2.0934$; $p = 0.0828$	$F_{1,4} = 0.9319$; $p = 0.4534$	$F_{1,3} = 1.2684$; $p = 0.2955$
Size:Population	$F_{1,5} = 0.4224$; $p = 0.8307$	$F_{1,4} = 0.5392$; $p = 0.7075$	$F_{1,3} = 0.5154$; $p = 0.6735$
Sex:Population	$F_{1,5} = 1.310$; $p = 0.2760$	$F_{1,4} = 0.6800$; $p = 0.6091$	$F_{1,3} = 0.9109$; $p = 0.4426$
Size:Sex:Population	$F_{1,5} = 0.4078$; $p = 0.8409$	$F_{1,4} = 0.5169$; $p = 0.7236$	$F_{1,3} = 0.6824$; $p = 0.5670$
Skull			
Size	$F_{1,10} = 1.2744$; $p = 0.2755$	$F_{1,8} = 1.02746$; $p = 0.4302$	$F_{1,4} = 0.6456$; $p = 0.6327$
Sex	$F_{1,10} = 1.5540$; $p = 0.1546$	$F_{1,8} = 1.8082$; $p = 0.1011$	$F_{1,4} = 1.3396$; $p = 0.2689$
Population	$F_{1,10} = 2.3782$; $p = 0.024$	$F_{1,8} = 2.3269$; $p = 0.0353$	$F_{1,4} = 4.5590$; $p = 0.003$
Size:Sex	$F_{1,10} = 0.5613$; $p = 0.8355$	$F_{1,8} = 0.6754$; $p = 0.7102$	$F_{1,4} = 1.1244$; $p = 0.3561$
Size:Population	$F_{1,10} = 0.2981$; $p = 0.9777$	$F_{1,8} = 0.2617$; $p = 0.9749$	$F_{1,4} = 0.0912$; $p = 0.9847$
Sex:Population	$F_{1,10} = 1.3656$; $p = 0.2294$	$F_{1,8} = 1.7210$; $p = 0.1202$	$F_{1,4} = 1.7434$; $p = 0.1559$
Size:Sex:Population	$F_{1,10} = 0.7034$; $p = 0.7158$	$F_{1,8} = 0.8083$; $p = 0.5988$	$F_{1,4} = 0.4971$; $p = 0.7378$
Dentary			
Size	$F_{1,8} = 2.4482$; $p = 0.027$	$F_{1,7} = 2.8378$; $p = 0.01$	$F_{1,4} = 2.7871$; $p = 0.03$
Sex	$F_{1,8} = 0.2441$; $p = 0.9798$	$F_{1,7} = 0.2825$; $p = 0.9575$	$F_{1,4} = 0.3080$; $p = 0.8712$
Population	$F_{1,8} = 3.1920$; $p = 0.006$	$F_{1,7} = 3.6155$; $p = 0.003$	$F_{1,4} = 6.5450$; $p = 0.0002$
Size:Sex	$F_{1,8} = 0.7001$; $p = 0.6895$	$F_{1,7} = 0.7739$; $p = 0.6121$	$F_{1,4} = 0.7667$; $p = 0.5521$
Size:Population	$F_{1,8} = 0.9616$; $p = 0.4777$	$F_{1,7} = 1.0513$; $p = 0.4100$	$F_{1,4} = 0.4470$; $p = 0.7740$
Sex:Population	$F_{1,8} = 0.9956$; $p = 0.4528$	$F_{1,7} = 1.1153$; $p = 0.3703$	$F_{1,4} = 1.6148$; $p = 0.1858$
Size:Sex:Population	$F_{1,8} = 0.7226$; $p = 0.6705$	$F_{1,7} = 0.6836$; $p = 0.6850$	$F_{1,4} = 1.0352$; $p = 0.3988$
Subopercular			
Size	$F_{1,5} = 1.04863$; $p = 0.4007$	$F_{1,4} = 2.5071$; $p = 0.05$	$F_{1,2} = 1.2255$; $p = 0.30$
Sex	$F_{1,5} = 0.2370$; $p = 0.9442$	$F_{1,4} = 0.099$; $p = 0.9824$	$F_{1,2} = 0.0625$; $p = 0.939$
Population	$F_{1,5} = 1.9571$; $p = 0.1026$	$F_{1,4} = 2.4396$; $p = 0.05$	$F_{1,2} = 0.5470$; $p = 0.582$
Size:Sex	$F_{1,5} = 0.2196$; $p = 0.9523$	$F_{1,4} = 0.1725$; $p = 0.9514$	$F_{1,2} = 0.2315$; $p = 0.794$
Size:Population	$F_{1,5} = 0.3275$; $p = 0.8938$	$F_{1,4} = 0.3804$; $p = 0.8215$	$F_{1,2} = 0.2924$; $p = 0.748$
Sex:Population	$F_{1,5} = 1.1415$; $p = 0.3519$	$F_{1,4} = 1.38115$; $p = 0.2545$	$F_{1,2} = 1.622$; $p = 0.2076$
Size:Sex:Population	$F_{1,5} = 0.73824$; $p = 0.5986$	$F_{1,4} = 0.9418$; $p = 0.4479$	$F_{1,2} = 0.5802$; $p = 0.563$

- F values correspond to the approximative F.