

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

PAR
JESSY DYNES

DIFFÉRENCIATION GÉNÉTIQUE ET MORPHOLOGIQUE DE DEUX ÉCOTYPES DE
L'OMBLE DE FONTAINE, *SALVELINUS FONTINALIS*.

AVRIL 1998

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

AVANT-PROPOS

À la suite des réformes apportées en septembre 1991, concernant les exigences d'obtention du diplôme de 2^e cycle en Sciences de l'environnement, les étudiants(es) peuvent maintenant présenter leurs résultats sous forme d'articles scientifiques plutôt que sous forme d'un mémoire, comme par le passé.

Il a été convenu avec mon directeur de recherche, le professeur Pierre Magnan, que deux articles issus de mon projet seraient soumis à des revues scientifiques (chapitre 1 et 2). Les articles ont été rédigés en anglais, mais un résumé substantiel en français est présenté en annexe en conformité avec la politique du Décanat des études avancées et de la recherche. Ce mémoire comprend aussi la problématique du projet de recherche ainsi que la rétrospective de la littérature mise à jour qui avaient été présentées dans le cadre de mon séminaire I (ECL-6005). J'ai convenu avec mon directeur d'inclure ces dernières pour qu'elles puissent servir de point de départ à ceux qui me suivront.

REMERCIEMENTS

De nombreuses personnes ont contribué à ce projet de recherche. En premier lieu, j'aimerais remercier le Dr Pierre Magnan, directeur du projet, d'abord pour m'avoir transmis sa passion pour l'ichtyologie et sa rigueur scientifique, mais aussi pour ses judicieux conseils, ses critiques pertinentes, son appui financier, ainsi que la confiance et l'encouragement qu'il m'a toujours témoignés.

Mes remerciements vont aussi au Dr Louis Bernatchez de l'Université Laval, codirecteur du projet, pour ses précieux conseils et son appui constant tout au long du volet génétique. Je tiens également à remercier le Dr Marco A. Rodriguez de l'Université du Québec à Rimouski, qui a collaboré au chapitre 2 de mon mémoire, pour son support logistique, de même que pour les nombreux conseils qu'il m'a donnés.

Je tiens à remercier sincèrement tous ceux qui ont contribué au succès de la campagne d'échantillonnage, soit Dominic Boula, Éric Dufour, Pierre East, Patrick Lemay et Serge Verville. Ma reconnaissance va aussi à Bernard Angers, Angelo Chouinard, Sylvain Martin et Nathalie Tessier pour leur disponibilité, ainsi que leur support pour les analyses génétiques et le traitement des données. J'aimerais offrir une pensée sincère au défunt Angelo Chouinard qui fût non seulement un confrère de travail merveilleux mais également un grand ami ... Je tiens à remercier Geneviève Bélanger pour sa précieuse assistance technique lors des analyses morphologiques. Je ne peux pas passer sous silence les conseils fournis par Claude Desmers, photographe à l'Université du Québec à Trois-Rivières. J'aimerais aussi remercier Micheline Simard pour les nombreux travaux qu'elle m'a corrigés.

Enfin, je tiens à remercier les organismes suivants pour les bourses qu'ils m'ont accordées pour la réalisation de ma maîtrise en Sciences de l'environnement : le programme Intervention spéciale de l'Université du Québec à Trois-Rivières et la Fondation Universitaire du centre du Québec.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	ii
REMERCIEMENTS	iii
TABLE DES MATIÈRES	iv
LISTE DES TABLEAUX	vii
LISTE DES FIGURES	viii
LISTE DES ANNEXES	ix
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	
Problématique	1
Rétrospective de la littérature.....	5
Déplacement des caractères et différenciation génétique chez les poissons	5
Plasticité phénotypique chez les poissons	7
Généralités	7
Bases génétiques de la plasticité phénotypique	8
Variations phénotypiques liées aux différences dans l'utilisation de la ressource	11
CHAPITRE 1	
A microsatellite assessment of genetic differentiation between two forms of lacustrine brook trout, <i>Salvelinus fontinalis</i>	15
Abstract	16
Introduction	17

Materials and methods	19
Study lakes.....	19
Fish sampling.....	19
Genetics analyses.....	20
Microsatellite analysis	20
Data analysis.....	20
Results	21
Overall genetic diversity.....	21
Inter-lake differentiation.....	22
Intra-lake differentiation.....	22
Discussion	29
Microsatellite diversity in brook trout	29
Genetic differentiation between forms	29
Evolutionary divergence of brook trout in Lake Bondi.....	31
Acknowledgments	33
References	33

CHAPITRE 2

Morphological variation between two forms of lacustrine brook trout, <i>Salvelinus fontinalis</i>	37
Abstract	38
Introduction	39
Materials and methods	40
Study lakes.....	40
Fish sampling.....	41
Morphological measurements	41
Statistical analyses.....	42
Results	44
Discussion	50
Morphological polymorphism	50
Mode of divergence of sympatric morphs	51

Acknowledgments	52
References	52
CONCLUSION GÉNÉRALE	57
RÉFÉRENCES DE L'INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	58
ANNEXE A : Résumé français des chapitres 1 et 2	67

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE 1

Table 1. Number of alleles (A), range of allele size in base pairs, and overall expected heterozygosity (H_e) for the different microsatellite loci used in the study of brook trout populations of lakes Bondi and Ledoux.....23

Table 2. Sample size (n), total number of alleles (A), observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosity by locus for brook trout from lakes Bondi and Ledoux (pooled groups) and divided by groups (littoral and pelagic) within each lake.24

Table 3. Genetic differentiation based on statistical significance of allele frequency distribution (p) estimated for the two brook trout populations (Lake Bondi versus Lake Ledoux) and the two groups (littoral versus pelagic) within each lake.....25

Table 4. Allelic correlation within individuals (F_{is} ; Weir and Cockeran 1984) estimated from all fish pooled within lakes Bondi and Ledoux and between the two groups (littoral and pelagic) within each lake.....27

Table 5. Degree of population genetic structure based on allelic (θ ; Weir and Cockeran 1984) and molecular (Φ ; Excoffier *et al.* 1992) variance assessed from the two brook trout populations (lakes Bondi and Ledoux) and the two groups (littoral and pelagic) within each lake.....28

CHAPITRE 2

Table 1. Results of the discriminant function analyses used to compare shape characters of littoral and pelagic brook trout. Dx-y: distance between landmarks x and y.....45

Table 2. Adjusted means (\pm SD) of trophic characters of littoral and pelagic brook trout.49

LISTE DES FIGURES**CHAPITRE 2**

- Fig. 1. Location of the 13 body landmarks (points) used to calculate the conventional and truss distances (dashed lines: 27 interpoint distances) included in the discriminant function analyses. Landmarks refer to: (1) anterior tip of snout at upper jaw, (2) center of eye, (3) most posterior aspect of neurocranium, i.e. beginning of scaled nape, (4) origin of dorsal fin, (5) insertion of dorsal fin, (6) anterior attachment of dorsal membrane from caudal fin, (7) base of middle caudal rays, (8) anterior attachment of ventral membrane from caudal fin, (9) insertion of anal fin, (10) origin of anal fin, (11) origin of pelvic fin, (12) origin of pectoral fin, and (13) distal tip of pectoral fin.43
- Fig. 2. Frequency distribution of discriminant scores for littoral and pelagic brook trout from Lake Bondi (solid line: littoral group; dashed line: pelagic group).47
- Fig. 3. Frequency distribution of discriminant scores for littoral and pelagic brook trout from Lake Ledoux (solid line: littoral group; dashed line: pelagic group).48

LISTE DES ANNEXES**ANNEXE A**

Résumé français des chapitres 1 et 2	67
--	----

CHAPITRE 1

A microsatellite assessment of genetic differentiation between two forms of lacustrine brook trout, *Salvelinus fontinalis*

CHAPITRE 2

Morphological variation between two forms of lacustrine brook trout, *Salvelinus Fontinalis*

INTRODUCTION GÉNÉRALE

PROBLÉMATIQUE

Plusieurs rétrospectives récentes de littérature ont démontré que le polymorphisme trophique (angl: trophic polymorphism) se manifeste chez plusieurs espèces vertébrées (Robinson et Wilson 1994, Wimberger 1994, Skúlason et Smith 1995). Bien que les différences entre les formes ou morphes varient considérablement entre les taxons, elles tendent généralement à être corrélées avec des différences au niveau de l'habitat et de la diète (Robinson et Wilson 1994, Wimberger 1994). Le polymorphisme trophique se traduit principalement par des variations morphologiques et comportementales entre les individus (Robinson et Wilson 1994, Skúlason et Smith 1995). Chez les poissons, le polymorphisme prend souvent la forme de paires sympatriques ayant colonisé les lacs postglaciaux (10 000 - 15 000 années) de l'hémisphère Nord. Plusieurs lacs d'eau douce contiennent en effet des populations de poissons présentant une forme « benthique » (aussi appelée « littorale ») de même qu'une forme « pélagique » (aussi appelée « limnétique »; revue dans Robinson et Wilson 1994). Dans certain cas, les paires sympatriques peuvent présenter une forme « normale » et une forme « naine » (Hindar et Jonsson 1982, Bernatchez et Dodson 1990, Taylor et Bentzen 1993b). En général, ces formes partagent les ressources en développant des adaptations locales face aux différents habitats, comme des variations dans la distribution spatiale et l'alimentation (Bodaly 1979, Meyer 1989, Robinson *et al.* 1993, Schluter et McPhail 1993, Skúlason *et al.* 1993). Chez les poissons, il existe essentiellement deux types de polymorphisme trophique; l'un implique des différences tranchantes entre les formes (p. ex., Snorrason *et al.* 1989; Skúlason *et al.* 1993) tandis que l'autre est beaucoup plus subtil (p. ex., Ehlinger et Wilson, 1988; Robinson *et al.*, 1993), et pour cette raison souvent difficile à percevoir. La variation individuelle au niveau d'une même population a été longtemps négligée parce qu'elle était considérée comme du « bruit » ou comme une déviation autour d'une réponse optimale (Lomnicki 1988, Ehlinger 1990). Bien que les patrons d'hétérogénéité intra-population soient interprétés sur une base adaptative pour certains groupes taxinomiques, peu d'études ont cherché à établir le degré de différenciation comportementale, morphologique et génétique chez les poissons. À cet égard, les populations d'omble de fontaine, *Salvelinus fontinalis*, habitant les

lacs du bouclier laurentien offrent un système de choix, puisqu'il est déjà reconnu que le mode alimentaire de l'espèce peut être très variable à l'intérieur d'un même plan d'eau (Magnan 1988, Lacasse et Magnan 1992).

Des observations récentes indiquent que dans certains cas, les variations de la distribution spatiale et de l'alimentation s'établissent très tôt dans le développement de l'omble de fontaine. Venne et Magnan (1995) ont observé, dans une étude de 10 lacs de la réserve Mastigouche (nord de Trois-Rivières), que les ombles juvéniles (0+) du Lac Bondi (comportant de 8 à 10 fois plus de jeunes de l'année que les autres populations allopatриques) étaient divisés en deux groupes en fonction de la profondeur. Un premier groupe, appelé « littoral », était retrouvé à une profondeur de 0 à 2 m alors que le second groupe, appelé « profond » (équivalent des types d'eau libre), était retrouvé à une profondeur de 3 à 6 m. Ces deux groupes présentaient une diète et une taille moyenne similaires au mois de juillet. Cependant, en septembre, le groupe profond consommait de plus grosses proies planctoniques que le groupe littoral et affichait une taille moyenne supérieure. Le coefficient de condition des individus littoraux était supérieur à celui des individus pélagiques en juillet par rapport au mois de septembre, où l'on pouvait observer la situation inverse. Les deux groupes identifiés dans le Lac Bondi différaient également au niveau de certains paramètres morphologiques (Venne et Magnan 1995); une analyse des fonctions discriminantes, basée sur 21 caractères mériстиques et morphométriques, quoique non significative, a permis de reclasser correctement 90 % des individus dans leur groupe approprié (Rodriguez, Duchesne et Magnan; données non publiées). Ce résultat indique la présence de différences morphométriques réelles entre les deux groupes. Mais une taille de l'échantillon trop petite pour atteindre le seuil de signification statistique (cette analyse était basée sur des mesures morphométriques de seulement 20 spécimens de chaque groupe; Venne et Magnan 1995). Parmi les divers caractères, la largeur de la bouche, la longueur de la base de la nageoire dorsale, la distance entre le museau et l'œil ainsi que la distance entre l'opercule et le museau constituaient les éléments les plus discriminants.

De plus, Bourke *et al.* (1997) ont démontré, à l'aide de la radio-télémétrie, qu'il existe des variations interindividuelles dans l'utilisation de l'espace chez des populations d'ombles de

fontaine adultes. Ces auteurs ont identifié deux groupes de spécialistes, l'un benthique et l'autre pélagique, et un groupe de généralistes dans deux autres lacs de la réserve Mastigouche (Lac Ledoux et Lac de l'Épervier); les individus des zones pélagiques possédaient des nageoires pectorales plus courtes et un patron de coloration différent des deux autres groupes (les individus pélagiques avaient une coloration rougeâtre beaucoup plus vive et plus prononcée sur les flancs que les individus benthiques et les généralistes, ce qui a été attribué à une alimentation à base de zooplancton). Les quelques poissons benthiques et pélagiques, dont l'émetteur fonctionnait toujours à l'automne, ont également sélectionné des sites de fraie différents, ce qui indique un potentiel d'isolement reproducteur. Ces études suggèrent donc que les ombles de fontaine habitant les lacs du bouclier laurentien démontrent un polymorphisme trophique subtil, où certains individus sont des spécialistes, mieux adaptés pour s'alimenter en zone littorale, tandis que d'autres sont des spécialistes, mieux adaptés pour s'alimenter en zone pélagique (Bourke *et al.* 1997).

La caractérisation génétique constitue une approche efficace permettant d'établir l'appartenance des individus à différents groupes ou stocks de poissons. Parmi les techniques génétiques qui ont été appliquées à l'étude des populations d'omble de fontaine, on retrouve notamment les allozymes (Stoneking *et al.* 1981, Ferguson *et al.* 1991, McCracken *et al.* 1993, Perkins *et al.* 1993) et l'analyse d'ADN mitochondrial (Danzmann *et al.* 1991ab, Ferguson *et al.* 1991, Bernatchez et Danzmann 1993). Bien qu'efficace dans plusieurs situations, l'utilité de ces approches, quant à la différenciation génétique des populations à fine échelle, est limitée par leur diversité allélique réduite pour la majorité de l'aire de distribution nord-américaine de l'espèce (Ferguson *et al.* 1991, Danzmann *et al.*; données non publiées). Récemment, l'analyse de loci microsatellites a permis de détecter un niveau de variabilité génétique qu'aucune autre méthode n'avait pu atteindre, avec beaucoup moins d'effort et d'investissement (Wright et Bentzen 1994, O'Reilly et Wright 1995). Appliqués aux communautés piscicoles, ces nouveaux types de marqueurs permettent de différencier génétiquement des populations fortement apparentées, telles que les formes sympatriques d'une même espèce (Angers *et al.* 1995, Tessier *et al.* 1995, Tessier *et al.* 1997, Angers et Bernatchez; sous presse). Les microsatellites sont en fait des répétitions en tandem de courtes séquences d'ADN, d'un motif de deux à cinq paires de base (par exemple GT

ou CTA), qui sont dispersées dans tout le génome (Bernatchez 1994). Chez les poissons, ces séquences présentent un taux de polymorphisme qui excède largement celui généralement observé par l'analyse d'allozymes ou celle de l'ADN mitochondrial (Angers *et al.* 1995, Tessier *et al.* 1995).

En plus des approches génétiques, l'étude morphologique des populations s'avère un outil efficace pour révéler les variations de forme corporelle ainsi que les différents traits liés à l'utilisation différentielle des ressources. Les différences morphologiques et comportementales sont des facteurs favorisant la coexistence entre les individus, permettant ainsi le partage des ressources du milieu (revue dans Robinson et Wilson 1994). Les principales techniques utilisées pour détecter les différences morphologiques reposent sur des mesures morphométriques, suivies d'analyses statistiques multivariées, appliquées aux diverses variables étudiées (Gatz 1979a,b, Winnans 1984). Les variables correspondent principalement à des distances que l'on mesure au niveau des composantes externes des individus. Les mesures sont généralement basées sur la longueur et la largeur des structures ainsi que sur la distance entre certains points de repère (Gatz 1979a,b, Fleming *et al.* 1994). Ces procédés sont souvent confrontés aux caractéristiques allométriques des organismes (changement de forme corporelle en fonction de la taille) et nécessitent des corrections selon la taille des spécimens (Reist 1985). La variabilité morphologique peut être maintenant étudiée à l'aide d'une approche informatisée de collecte et d'analyse de données morphométriques qui permet d'enregistrer, sous forme numérique, les coordonnées x-y des caractéristiques corporelles des poissons. Les principales méthodes statistiques utilisées sont l'analyse des fonctions discriminantes, l'analyse en composante principale et les analyses canoniques variées (Smith et Patton 1988, dans Rohlf et Marcus 1993).

Le premier objectif du présent projet était d'étudier la variation de l'ADN microsatellite d'ombles de fontaine de deux lacs afin de tester l'hypothèse que les groupes littoraux et pélagiques observés à l'intérieur de ces populations représentent des formes génétiquement distinctes, occupant différentes niches trophiques. Le deuxième objectif était de faire ressortir de façon plus fine les différences morphologiques pouvant exister entre les deux groupes. Les poissons étudiés provenaient des populations allopatriques des lacs Bondi (jeunes de l'année, 0+) et Ledoux

(adultes, 3+) de la réserve Mastigouche, étudiées par Venne et Magnan (1995) ainsi que Bourke *et al.* (1997) respectivement.

RÉTROSPECTIVE DE LA LITTÉRATURE

Déplacement des caractères et différenciation génétique chez les poissons

Bien que la compétition soit facilement observable au niveau écologique, ses conséquences évolutives ont fait l'objet de plusieurs débats au cours des dernières années (Connell 1980, 1983, Arthur 1982, Schoener 1983, 1985, Walter *et al.* 1984, Abrams 1990, Liem 1990). Les approches traditionnelles de l'étude écologique du déplacement et de l'abandon de caractères analysent les différents traits des poissons peuplant les sites allopatriques et sympatriques, chez les espèces avec un chevauchement géographique partiel (Fenchel 1975, Schlüter *et al.* 1985). La distinction entre le déplacement de caractères et l'abandon de caractères est basée sur la relation historique entre les populations vivant en sympatrie et en allopatrie (Robinson et Wilson 1994). Le déplacement de caractères se produit lorsque deux espèces isolées géographiquement forment une zone de sympatrie (Brown et Wilson 1956), tandis que l'abandon de caractères survient lorsque des espèces (vivant préalablement en sympatrie) sont occasionnellement trouvées isolées, comme par exemple sur des îles (Lack 1947, Van Valen 1965).

Les deux processus favorisent la différenciation adaptative des caractères impliqués au niveau de l'utilisation des ressources, bien qu'à des niveaux taxinomiques distincts. La compétition est une force de diversification qui survient au niveau intraspécifique lorsqu'il y a plus d'une espèce en présence et au niveau interspécifique dans le cas d'une seule espèce (il existe également quelques évidences théoriques de convergence de caractères : MacArthur et Levins 1967, Grant 1972, Slatkin 1980, Vadas 1990). Les différences morphologiques et comportementales sont des facteurs favorisant la coexistence entre individus, permettant ainsi un partage des ressources du milieu (Robinson et Wilson 1994, Wimberger 1994). Un des problèmes majeurs de l'étude de la variation des caractères entre les individus se situe au niveau de leur persistance à long terme. Les différences interindividuelles seront d'une importance évolutive seulement si elles sont transmises génétiquement d'une génération à l'autre et qu'elles mènent à l'adaptation locale.

Au cours des dernières années, des études ont permis d'observer que des groupes de poissons génétiquement distincts peuvent développer des adaptations physiologiques, écologiques et comportementales qui leur sont propres. Robinson et Wilson (1994) ont établi la présence d'une différenciation génétique pour 19 des 48 espèces lacustres ayant fait l'objet d'études antérieures. Les références citées par ces auteurs comprennent des études qui traitent de l'héritabilité des caractères trophiques, démontrant des différences au niveau de l'aire et du temps de ponte ainsi que des expériences de type « common garden » (échantillons de différents phénotypes, sauvages ou créés en laboratoire, qui sont élevés dans des conditions identiques afin de tester la différenciation morphologique et comportementale des individus). De plus, ces travaux comportent des études d'allozymes indiquant une différenciation génétique à l'intérieur de certaines espèces. Même si ces études sont rarement en mesure de lier directement la différenciation génétique aux traits phénotypiques découlant de l'utilisation des ressources, elles révèlent tout de même une différenciation des phénotypes. Le fait que cette relation existe pour seulement 19 espèces lacustres ne signifie pas que les différences génétiques sont absentes chez les autres espèces, mais seulement qu'elles n'ont pas été démontrées expérimentalement.

L'un des exemples les plus connus de différenciation génétique concerne les épinoches à trois épines, *Gasterosteus aculeatus*, habitant les lacs de l'ouest canadien. McPhail (1994) ainsi que Schluter et McPhail (1992, 1993) ont démontré que les épinoches vivant seules dans les petits lacs de la côte de la Colombie Britannique ont un nombre moyen de branchiténies différent et utilisent les habitats pélagiques et benthiques. Quelques lacs contiennent deux formes (Schluter et McPhail 1992, 1993, McPhail 1994) qui habitent les zones pélagiques et benthiques, avec respectivement un grand et un petit nombre de branchiténies. Les poissons pélagiques sont planctonophages tandis que les individus benthiques se nourrissent de benthos en zone littorale. Ces auteurs proposent que les lacs contenant les deux espèces ont été formés par la double invasion d'ancêtres marins pendant une période s'étendant sur 1 500 ans, ce qui a provoqué un déplacement rapide de caractères au niveau des branchiténies. Ces changements ont été suivis d'une différenciation génétique et morphologique au cours des 11 000 dernières années. Les différences phénotypiques entre les formes pélagiques et benthiques persistent même lorsque les poissons sont élevés en laboratoire et nourris avec la même diète (McPhail 1984, 1994, Lavin et

McPhail 1987). De plus, il est déjà connu que la variation phénotypique intrapopulation possède une forte composante héritable chez les épinoches (Lavin et McPhail 1987). Ainsi, il existe une base génétique pour la différenciation trophique chez les épinoches, qui peut répondre rapidement à la sélection naturelle. Tel que mentionné précédemment, l'établissement de formes sympatriques génétiquement différenciées n'est pas unique aux épinoches. En effet, l'isolement reproducteur entre les morphotypes sympatriques est un phénomène présent chez plusieurs espèces de poissons d'eau douce subarctiques et arctiques (Ryman *et al.* 1979, Smith et Todd 1984, Foote *et al.* 1989, Verspoor et Cole 1989, Ferguson et Taggart 1991, Taylor et Bentzen 1993a,b, Hindar 1994, Robinson et Wilson 1994, Skúlason et Smith 1995, Bernatchez *et al.* 1996, Taylor *et al.* 1996, Pigeon *et al.* 1997.)

Plasticité phénotypique chez les poissons

Généralités

Lorsque les conditions environnementales diffèrent au sein de l'aire de distribution d'une espèce, il est peu probable qu'un seul phénotype puisse obtenir un « fitness » élevé pour toutes les situations. Dans un tel cas, des changements phénotypiques suite à l'effet de l'environnement immédiat (plasticité phénotypique) permettent d'améliorer les adaptations fonctionnelles des individus (Lindsey 1981, De Jong 1995). La plasticité phénotypique est donc une solution aux problèmes d'adaptation et d'hétérogénéité environnementale. À cause du rôle que joue l'hétérogénéité du milieu dans l'écologie et l'évolution de la plupart des espèces, la plasticité phénotypique est d'un grand intérêt pour les écologistes et biologistes évolutionnaires depuis plusieurs années (Schlichting 1986, Stearns 1989, Scheiner 1993).

Plusieurs études empiriques ont révélé des changements phénotypiques adaptés à l'environnement pour une grande variété de caractères chez les plantes et les animaux, au niveau des systèmes agricoles et naturels, à la fois pour les variations spatiale et temporelle de l'environnement (Schlichting 1986, Stearns 1989, Scheiner 1993). Compte tenu de la généralité de ces exemples, il fût difficile d'élaborer une image spécifique des principes et concepts en cause dans l'évolution de la plasticité phénotypique (Via *et al.* 1995). Par contre, plusieurs auteurs s'entendent sur le fait que le degré de changements phénotypiques à travers les divers

milieux peut différer selon les caractères impliqués. De plus, le nombre et les types de changements observés dépendent de l'environnement considéré (Stearns 1989).

Dans le cadre des approches mathématiques (Van Tienderen et Koelewijn 1994, De Jong 1995), les différentes méthodes de modélisation ont donné lieu à plusieurs controverses relatives à l'évolution du principal phénomène impliqué dans la plasticité phénotype, c'est-à-dire la norme de réaction (angl: reaction norm). De façon générale, la norme de réaction peut être considérée comme un mécanisme transformant la distribution de variations environnementales en une distribution de variations phénotypiques (Thompson 1991). Les conflits portent particulièrement sur les bases génétiques de la plasticité et la façon dont la sélection naturelle affecte les normes de réaction (Scheiner 1993, Via 1993, Van Tienderen et Koelewijn 1994, De Jong 1995). Le débat à propos des diverses approches s'inscrit autour de l'idée que, pour certains auteurs, la plasticité phénotypique est séparée de la valeur moyenne d'un caractère basé sur différents environnements, et obéit à un contrôle génétique particulier. Cette vision, voulant que la valeur moyenne et la plasticité d'un trait soient séparées, a provoqué des discussions au sujet de la possibilité qu'il existe des « gènes pour la plasticité ». Par le fait même, la sélection naturelle agirait sur la plasticité proprement dite (Scheiner 1993, Schlichting *et al.* 1993). L'autre point de vue considère que la plasticité phénotypique évolue comme un sous-produit de la sélection naturelle pour les caractères phénotypiques exprimés dans l'environnement (Via 1993). Ainsi, les loci affectant le phénotype moyen pour chaque environnement détermineraient aussi la plasticité (Via 1993, De Jong 1995).

Bases génétiques de la plasticité phénotypique

Peu d'études ont porté sur les bases génétiques de la variation quantitative des traits morphologiques et comportementaux (Barton et Turelli 1987). Toutefois, des progrès substantiels ont été réalisés depuis les publications des travaux de Schlichting (1986), Scheiner (1993) et Via (1993). Ces travaux ont permis de distinguer deux classes d'effets génétiques influençant les réponses plastiques face à l'environnement : (1) certains allèles peuvent s'exprimer dans bon nombre d'environnements et provoquer des effets variables sur le phénotype (sensibilité allélique), et (2) des loci régulateurs peuvent activer ou désactiver d'autres gènes en

présence d'environnements particuliers (régulation génique). Comme le mentionnent Via *et al.* (1995), ces deux modes d'action possibles sur la plasticité phénotypique interagissent souvent afin d'optimiser l'adaptation à l'environnement. Ces catégories de loci, soit des allèles dont la sensibilité répond à l'environnement et d'autres loci régulateurs affectant l'expression des gènes, peuvent être considérés comme des « gènes plastiques » (De Jong 1995). Cependant, il faut noter qu'il existe certaines controverses sur la portée de ces deux mécanismes génétiques à l'égard des principales réactions plastiques. Dans la plupart des cas, les normes de réaction évoluent probablement comme étant le sous-produit de la sélection naturelle pour les valeurs phénotypiques exprimées (Van Tienderen et Koelewijn 1994). La sélection peut également changer directement la forme de la norme de réaction (Via *et al.* 1995).

Bien que l'hérédité des traits liés à la ressource soit fréquemment démontrée chez les poissons, Robinson et Wilson (1994) considèrent que cela constitue un critère trop restrictif pour démontrer le déplacement et l'abandon de caractères. Par exemple, en considérant une espèce offrant deux états écologiques, E_A et E_B , nécessitant respectivement les phénotypes adaptatifs P_A et P_B , la question qui se pose est de savoir si les deux phénotypes sont produits par des génotypes séparés ou par un seul génotype phénotypiquement plastique ? Selon Robinson et Wilson (1994), la réponse à cette question dépend de la durée des changements environnementaux. Lorsque l'environnement reste constant durant plusieurs générations, l'adaptation serait vraisemblablement génétique et relativement inflexible. Cela s'explique par les coûts présumés de la plasticité suite à des réponses incorrectes devant des signaux environnementaux, ou simplement par le maintien d'un phénotype plastique inutilisé (revue dans Newman 1992). Par contre, des fluctuations environnementales importantes peuvent favoriser l'évolution d'un simple génotype qui peut être développé en P_A ou P_B , dépendant des conditions qui prédominent. Cette stratégie peut être d'autant plus efficace puisqu'un phénotype particulièrement adapté peut mieux convenir qu'un génotype fixe (revue dans Stearns 1989, Thompson 1991). Ces principes peuvent s'appliquer aux deux états écologiques, incluant ou non la présence d'un compétiteur. Cette distinction entre le polymorphisme génétique et la plasticité phénotypique ne dit rien à propos des forces sélectives, mais touche plutôt à la période selon laquelle ces forces changent (Robinson et Wilson 1994).

Ainsi, le déplacement et l'abandon de caractères peuvent être entièrement tributaires des mécanismes de la plasticité phénotypique (Skúlason et Smith 1995).

La nature de l'environnement de plusieurs espèces de poissons lacustres est imprévisible et ce, sur plusieurs périodes temporelles. Sur une échelle évolutionnaire, les lacs tempérés par exemple sont largement distribués mais plutôt éphémères en raison des changements rapides des bassins hydrographiques, de l'activité glaciaire importante, d'une forte érosion, etc. (Danzmann *et al.* 1991). Les routes de migration accessibles aux espèces ichthyennes changent constamment, ce qui augmente la diversité des communautés entre les lacs d'une région. Lorsque deux espèces compétitrices colonisent aléatoirement une telle région, elles créent une gamme de lacs contenant une ou deux espèces. Lors d'une telle situation, il arrive que le développement de phénotypes plastiques soit favorisé par rapport aux génotypes immobiles. Néanmoins, la compétition reste la force de diversification évolutive. De façon alternative, l'abondance de deux espèces peut fluctuer à l'intérieur d'un seul lac, ce qui modifie l'importance relative de la compétition intra- et interspécifique. Ces modifications trophiques peuvent alors être dépistées par l'activité plastique des phénotypes présents (plasticité de développement) (Robinson et Wilson 1994). La compétition constitue encore la force de diversification qui se manifeste comme un modèle adaptatif de plasticité phénotypique plutôt que comme un polymorphisme génétique.

Robinson et Wilson (1994) fournissent de bons exemples que la diversité phénotypique peut être causée par des différences génétiques chez certains taxons et par la plasticité du développement chez d'autres. Effectivement, bien que les populations d'épinoches d'eau douce soient morphologiquement diversifiées, reflétant les adaptations face aux pressions sélectives locales, la forme marine est relativement uniforme à travers sa répartition géographique (Bell *et al.* 1993, McPhail 1992). Cette régularité reflète vraisemblablement la stabilité de l'environnement marin. Robinson et Wilson (1994) prédisent que la plasticité du développement des caractères trophiques n'a pas été retenue chez la forme marine ancestrale puisque l'environnement était uniforme et plutôt stable. Ainsi, la divergence phénotypique chez les épinoches d'eau douce, espèces relativement récentes, se serait tout d'abord accomplie par différenciation génétique.

Par contre, toujours selon Robinson et Wilson (1994), l'environnement ancestral du corégone (*Corogonidea*) était formé d'une gamme de lacs qui changeaient continuellement entraînant des variations biotiques et abiotiques de leur environnement. Ces conditions dynamiques ont vu naître certaines populations vivant en allopatrie et d'autres vivant en sympatrie, pour des périodes de temps imprévisibles, avant d'être intégrées aux nouveaux modèles d'isolement et de coexistence que l'on connaît aujourd'hui. Robinson et Wilson (1994) prédisent que la plasticité du développement a joué un rôle énorme au niveau de la diversité phénotypique des populations de corégones (cette situation pourrait également être applicable à l'omble chevalier, *Salvelinus alpinus*) en comparaison avec l'exemple des épinoches. Les suppositions de Lindsey (1981), voulant que l'influence relative des génotypes et de l'environnement diffère pour presque chaque caractère examiné chez les corégones, sont également compatibles avec cette prédiction.

Variations phénotypiques liées aux différences dans l'utilisation de la ressource

La différenciation des individus dans les lacs survient souvent de manière prévisible et inclut presque toujours des formes benthiques et pélagiques (Robinson et Wilson 1994). Selon ces auteurs, pour 37 des 48 espèces lacustres étudiées, la diversification trophique et morphologique inclut la coexistence de formes benthiques et pélagiques. Ces observations suggèrent que la plupart des lacs offrent une collection similaire d'habitats et de ressources (benthiques et pélagiques) pouvant être considérés comme des « niches » qui existent indépendamment des espèces qui les habitent. Schluter et McPhail (1993) arrivent également aux mêmes conclusions dans une revue de la littérature récente sur le sujet.

La relation entre la morphologie et l'utilisation des ressources chez les poissons est bien documentée et détermine les concepts de base. Il est connu que les poissons pélagiques de presque tous les taxons convergent vers un corps fusiforme qui est hydrodynamiquement efficace pour nager en eau libre (Webb 1984). La rétention de petites particules comme le zooplancton est effectuée grâce à un grand nombre de branchitiénies étroitement espacées qui tamisent l'eau sortant des branchies (Lindsey 1981, Lavin et McPhail 1985, 1986, Schluter et McPhail 1993) et contrôlent la dynamique des fluides dans la cavité buccale (Sanderson *et al.* 1991, Robinson *et al.* 1993). Les poissons benthiques, quant à eux, consomment des proies au corps dur, tels les

escargots et larves d'insectes, et possèdent des mécanismes permettant de broyer les organismes. En effet, le broyage peut être amélioré grâce à un « moulin pharyngal » doté de dents moliformes (Meyer 1989, Wainwright *et al.* 1991b) ou d'une musculature plus importante. La bouche est habituellement orientée vers le bas chez les poissons benthiques, en position terminale chez les poissons pélagiques et tournée vers le haut chez les individus qui se nourrissent en surface (Keast et Webb 1966, Lindsey 1981). Ces différences morphologiques qui se répètent fréquemment à travers les taxons, sont fortement liées à l'alimentation (Robinson et Wilson 1994, Skúlason et Smith 1995). Le fait que cette diversification se compose souvent d'une forme benthique et pélagique contribue à faciliter l'interprétation des phénomènes en cause.

Les populations d'omble chevalier ont longtemps causé des problèmes taxinomiques à cause de leur diversité morphologique (Behnke 1972, Nordeng 1983). Dans le Lac Thingvallavatn en Islande, par exemple, il coexiste au moins quatre formes différentes d'individus (petits et grands individus benthiques ainsi que des individus limnétiques et piscivores) avec deux autres espèces de poissons (épinoches et truites brunes, *Salmo trutta*). Les types benthiques possèdent un corps plutôt robuste, une bouche large et subterminale, un museau arrondi, de grandes nageoires pectorales et relativement peu de branchiténies. Par contre, les types limnétiques possèdent un corps plus fusiforme, de courtes nageoires pectorales, une bouche terminale avec un long museau pointu et plusieurs branchiténies (Skúlason *et al.* 1989b). Les formes benthiques semblent être plus efficaces à s'alimenter de zoobenthos, spécialement les mollusques, tandis que les formes limnétiques s'alimentent plus efficacement en eau libre, soit d'organismes zooplanctoniques et de poissons (épinoches et omble juvéniles) (Malmquist *et al.* 1992). Il existe un léger chevauchement dans l'alimentation des poissons benthiques et limnétiques âgés de plus d'un an, sauf au printemps lorsque toutes les formes convergent vers les pupes d'insectes qui deviennent très abondantes (Malmquist *et al.* 1992). Chaque forme possède des patrons distincts d'infections parasitaires, ce qui correspond bien avec la séparation de la diète et de l'habitat (Frandsen *et al.* 1989). Les formes morphologiques de l'omble chevalier présentes dans le Lac Thingvallavatn semblent avoir évolué en sympatrie depuis 5 000 à 10 000 années (Skúlason *et al.* 1989b). Bien que certaines questions restent en litige, les corrélations entre l'écologie et la morphologie

suggèrent que les phénotypes sont adaptés aux niches benthiques et pélagiques trouvées dans le Lac Thingvallavatn (Malmquist *et al.* 1992).

Les crapets soleil, *Lepomis gibbosus*, et les crapets arlequins, *Lepomis macrochirus*, présentent également des variations trophiques quant à l'utilisation de la ressource. La répartition géographique des deux espèces montre un chevauchement partiel bien que les crapets arlequins soient absents d'une grande partie du nord-est des États-Unis. Étant donné que les crapets arlequins sont absents de plusieurs bassins de drainage américains, les crapets soleil présentent un polymorphisme trophique dans quelques-uns de ces lacs, incluant alors une forme planctonophage (Robinson *et al.* 1993). Les populations de crapets soleil vivant en allopatrie occupent donc à la fois la colonne d'eau et la zone littorale des lacs (Robinson *et al.* 1993). Ces groupes d'individus diffèrent au niveau de la l'alimentation, de l'aspect général de la forme corporelle et de la morphologie des structures trophiques telles que les branchiténies et les dents pharyngiennes (Robinson *et al.* 1996). Dans les lacs où ils coexistent avec les crapets arlequins planctonophages, les crapets soleil occupent principalement la zone littorale et deviennent plus spécialisés devant les proies au corps dur (Mittelbach 1984, Osenberg *et al.* 1988, 1992).

La plasticité des composants génétiques et phénotypiques est à l'origine de cette différenciation trophique. De plus, des études récentes suggèrent que les variations de la forme corporelle sont partiellement héritables chez ces regroupements d'individus (Robinson et Wilson 1994). Étant donné que les crapets arlequins sont historiquement absents de ces bassins de drainage, ils ont donc été introduits dans plusieurs lacs. La propension humaine aux introductions de poissons a créé plusieurs expériences naturelles de ce genre, lesquelles peuvent être analysées en respectant les effets évolutionnaires de la compétition (Berg 1970, Crowder 1984, Magnan 1988, Magnan et Stevens 1992).

Il semble que la différenciation phénotypique puisse refléter le nombre de niches « disponibles » dans certains lacs. Ces exemples supposent que les polymorphismes des poissons lacustres sont également dépendants de certains aspects propres aux lacs tels que la taille, la morphométrie et la productivité (Hindar et Jonsson 1982). Les différences au niveau des facteurs abiotiques, telle la

physico-chimie des lacs, existent aussi et peuvent avoir des effets importants sur les interactions biotiques (Bell *et al.* 1993). Néanmoins, la plupart des lacs contiennent généralement des habitats benthiques et pélagiques (Smith et Todd 1984). Les nombreux exemples de divergence trophique des poissons à l'intérieur de ces niches sont vraisemblablement explicables par la présence ou l'absence d'espèces compétitrices plutôt que par de vagues facteurs stochastiques (Robinson et Wilson 1994, Skúlason et Smith 1995).

CHAPITRE 1

**A microsatellite assessment of genetic differentiation between two
forms of lacustrine brook trout, *Salvelinus fontinalis***

by

Jessy Dynes¹, Louis Bernatchez² and Pierre Magnan¹

¹ *Département de chimie-biologie*

Université du Québec à Trois-Rivières

C.P. 500, Trois-Rivières (Québec)

G9A 5H7, Canada

² *Département de biologie (GIROQ)*

Pavillon Vachon, Université Laval

Sainte-Foy (Québec)

G1K 7P4, Canada

ABSTRACT

Recent studies have indicated that brook trout inhabiting oligotrophic lakes of the Canadian Shield exhibit trophic polymorphisms, where some individuals are specialists better adapted to feeding in the littoral zone whereas others are specialists better adapted to feeding in the pelagic zone. The objective of the present study was to investigate microsatellite variations to test the hypothesis of genetic differentiation between littoral and pelagic brook trout from two lakes of the Canadian Shield. Genetic measurements suggest that the littoral and pelagic groups in Lake Bondi are two partially reproductively isolated and non-randomly mating populations. Genetic differentiation between the two groups was supported by differences in allele frequencies and by deviation from Hardy-Weinberg equilibrium when the two groups were pooled; no such deviation was observed when fish were divided into littoral and pelagic groups. In contrast to Lake Bondi, no clear evidence of genetic differentiation was observed in Lake Ledoux. Taken together, ecological and genetic data indicate that brook trout from Lake Bondi have developed adaptations associated with habitat segregation (littoral and pelagic) and that directional selective pressure may have been sufficient to maintain trophic specialization and produce genetic differences between them.

INTRODUCTION

Trophic polymorphism occurs in various vertebrate species and may be more widespread and evolutionarily important than presently recognized. Differences between forms or morphs vary widely across taxa and tend to be highly correlated with habitat and diet segregation (Robinson and Wilson 1994; Skúlason and Smith 1995). Trophic polymorphisms take many forms, which include behavioral and morphological characters (Robinson and Wilson 1994; Skúlason and Smith 1995). In fish, polymorphism usually takes the form of sympatric pairs, often found in postglacial lakes (10 000 - 15 000 years old) of the northern hemisphere (Schluter and McPhail 1993; Taylor and Bentzen 1993a; Snorrason et al. 1994; Chouinard et al. 1996). In several freshwater lakes, single-species populations are composed of both open-water types (named "limnetic" or "pelagic" forms) and shallow-water types (named "benthic" or "littoral" forms; reviewed in Robinson and Wilson 1994). Furthermore, sympatric pairs can also include both "normal" and "dwarf" morphotypes (Hindar and Jonsson 1982; Bernatchez and Dodson 1990; Taylor and Bentzen 1993b). In general, these forms share resources by developing specific local adaptations to different habitats, such as variations in spatial distribution and feeding habits (e.g., Robinson et al. 1993). Genetic differences have also been found between several sympatric pairs of fish (reviewed in Hindar 1994; Bernatchez et al. 1996; Pigeon et al. 1997), although it appears that reproductive barriers have only begun to develop and are still incomplete in many cases. Because they represent an ongoing process of population differentiation, these young sympatric forms may represent good model systems for the understanding of factors involved in the early stages of local adaptations and reproductive isolation.

Recent observations indicate that brook trout, *Salvelinus fontinalis*, exhibit intra-lake heterogeneity of spatial distribution and diet in several lakes of the Canadian Shield. Venne and Magnan (1995) found that juvenile brook trout (0+) of Lake Bondi were divided spatially into two groups. The first group, called "littoral", was found between 0 and 2 m depth while the other group, called "profundal" (equivalent of open-water types in other studies), was found between 3 and 6 m depth. The two groups differed in their feeding habits as well as in some morphological characters (Venne and Magnan 1995). Bourke et al. (1997) also observed inter-individual

variations in space use in adult brook trout with radiotelemetry. These authors identified two groups of specialists, one benthic and one pelagic, and a group of generalists in two other Québec lakes, Ledoux and de l'Epervier. The pelagic individuals were more reddish (which was attributed to their zooplankton diet) and had shorter pectoral fins than the benthic and generalist ones. These studies therefore indicated that brook trout inhabiting oligotrophic lakes of the Canadian Shield may exhibit trophic polymorphisms, where some individuals are specialists better adapted to feeding in the littoral zone whereas others are specialists better adapted to feeding in the pelagic zone (Venne and Magnan 1995; Bourke et al. 1997). These results, however, suggested a more subtle polymorphism than the more contrasting ones reported in other sympatric forms (e.g., Walker et al. 1988; Bernatchez and Dodson 1990). Such trophic polymorphism may have evolved in response to food competition among individuals (Crowder 1984; Lacasse and Magnan 1992). However, it is still unclear whether resource competition is sufficient to maintain this polymorphism and ultimately produce reproductive isolation. To date, evidence for partial reproductive isolation in brook trout has been provided by indirect observations. Bourke et al. (1997) showed that two groups belonging to the same population may select different spawning grounds, which indicates a potential for reproductive isolation. The results of O'Connor and Power (1973) also support the hypothesis of homing in brook trout, in one lake containing two spawning grounds.

In many situations, the assessment of differentiation at neutral loci is a powerful tool to test whether ecologically specialized morphs are nonrandomly mating groups and to infer the amount of gene flow between them. Genetic diversity of brook trout populations has previously been assessed by allozymes (e.g., Ferguson et al. 1991), but low numbers of alleles per locus may hamper the ability of this technique to detect low levels of differentiation. Mitochondrial (mt) DNA analyses have also been used to address issues in brook trout population genetics (e.g., Danzmann et al. 1991). However, some studies revealed that while generally polymorphic, mtDNA in brook trout was extremely low over most of its range of distribution in northeastern North America, with a single haplotype dominating in most populations (Ferguson et al. 1991; Danzmann et al. unpublished data). More recently, microsatellite analysis has become the most powerful method for fine-scale studies of genetic diversity in fishes (O'Reilly and Wright 1995).

Angers et al. (1995) and Angers and Bernatchez (in press) showed the usefulness of microsatellites for assessing microgeographic differentiation among recently diverged brook trout populations.

The objective of the present study was to investigate microsatellite variation to test the hypothesis of genetic differentiation between littoral and pelagic groups found in brook trout from two lakes of the Canadian Shield.

MATERIALS AND METHODS

Study lakes

The study was done in lakes Bondi and Ledoux, located 1.6 km apart, in the Mastigouche Reserve, north of Trois-Rivières (Québec) Canada (46°40'N, 73°20'W). These are characteristic of small oligotrophic temperate lakes with respect to surface area (23.3 and 11.9 ha), mean depth (8.0 and 5.5 m), conductivity (17.1 and 21.2 $\mu\text{S cm}^{-1}$), dissolved oxygen, thermal stratification, and Secchi disk transparency (Lacasse and Magnan 1992). Northern redbelly dace, *Phoxinus eos* (Cope), is the only other fish in the lakes.

Fish sampling

Fish were collected on June 25-26 and between August 8-21, 1996. The study included two age classes of brook trout, young-of-the-year (YOY) in Lake Bondi and adults (3+ and older) in Lake Ledoux. The age classes selected for this study corresponded to those studied by Venne and Magnan (1995)(YOY) and Bourke et al. (1997) (3+ and older). In Lake Bondi, fish were caught with multifilament (9.9 m long x 1.8 m deep) and monofilament gillnets (7.5 m and 15 m long x 1.8 m deep; filament diameter of 0.13 mm), both with stretched meshes of 15.9 mm. In Lake Ledoux, fish were captured with multifilament gillnets (32 m long x 2 m deep) with stretched meshes of 60, 76, 90, and 100 mm (filament diameters of 0.17, 0.20, 0.20, and 0.25 mm respectively).

The nets were set perpendicular to the shore. The sampling areas were chosen to cover the littoral (< 2 m) and the pelagic (> 3 m for YOY and > 4 m for adults) areas, without overlapping. In Lake Bondi, gillnets were set in daytime at 11 stations distributed around the lake while in Lake Ledoux they were mainly set at nighttime at four stations. In both lakes, the nets were removed every two or three hours to keep fish in good condition for further analyses. Adipose fins were clipped and preserved in 95 % ethanol for genetic analyses.

Genetic analyses

Microsatellite analysis

Total DNA was extracted according to Bernatchez et al. (1992). Microsatellite polymorphism was analyzed by specific PCR at five loci using primers developed for *Salvelinus fontinalis* Mitchell (Sfo-8, Sfo-12, Sfo-18, and Sfo-23; Angers et al. 1995) and *Salmo trutta* Linné (MST-85; Presa and Guyomard 1996). PCR conditions for amplifying loci were as detailed in Angers et al. (1995). Electrophoresis on polyacrylamide sequencing gels, fixation, drying, and autoradiography followed standard procedures. Alleles were sized by comparison with the standard M13 sequence and co-migration of allele standards of known sizes were run on all gels.

Data analysis

Genotypic phase disequilibrium was first computed to verify the physical independence of loci. Significant values were estimated by Fisher's exact test approximated by the Markov chain method available in version 3.0 of GENEPOP (Raymond and Rousset 1995). Genetic polymorphism was measured as the number of alleles per locus (A), and the observed heterozygosity (H_o) and expected heterozygosity (H_e) (Nei 1987) using GENEPOP v.3.0. These estimates were first computed globally for each lake and subsequently for each group within lake. To insure that the loci were sensitive enough to detect a population differentiation, brook trout from the physically isolated lakes were compared. Heterogeneity in allele frequencies between pooled brook trout from both lakes was estimated using the Markov chain method to obtain unbiased estimates of the exact test through iterations (1000 in this study) (Guo and Thompson 1992).

The degree of population genetic structure was quantified using an analysis of variance framework. Gene diversity analyses were first computed using Weir and Cockerham's (1984) analogous F-statistics (θ), which estimates the correlation between pairs of alleles through an analysis of variance using allele frequencies only. The population subdivision was also estimated using the molecular variance model of Excoffier et al. (1992). This procedure estimates standard variance components and an array of allelic correlation measures (Φ), which also take into account the variance in allele size between pairs of alleles. The mutational differences among alleles were entered as a matrix of Euclidian squared distances. These two methods were applied for every locus and all loci pooled. The molecular variance analysis was performed using version 1.0 of the program ARLEQUIN (Schneider et al. 1997).

GENEPOP v. 3.0 was then used to assess departure from Hardy-Weinberg (HW) proportions within lakes. As HW disequilibrium was observed in both lakes, which indicated nonrandom mating (see results), F_{is} were computed for every locus and over all loci to specifically test whether departures from HW equilibrium were caused by an excess or deficiency of heterozygotes. Overall F_{is} estimates were positive for both Lake Bondi and Lake Ledoux, which indicates nonrandom union of gametes within these lakes (see results). Consequently, more detailed analyses were performed to evaluate the extent of the genetic differences between forms from each lake. Genetic differentiation based on heterogeneity in allelic frequencies and F-statistics were computed as described above. Significance levels were estimated by Fisher's exact test in the cases of five alleles per locus or less and by the Markov chain method when the number of alleles was higher, to obtain unbiased estimates of the exact test through 1000 iterations (Guo and Thompson 1992).

RESULTS

Overall genetic diversity

Genotypic phase disequilibrium was first computed to verify the independence of loci within the littoral and pelagic groups in each lake (data not shown). When testing each pair of loci independently, a highly significant phase disequilibrium was detected between Sfo-23 and MST-

85 ($p < 0.000001$) in the littoral group of Lake Bondi and between Sfo-8 and Sfo-18 ($p < 0.000001$) in the littoral group of Lake Ledoux (Table 1). The pairs involved were not the same, which suggested physical independence between loci. All microsatellites were polymorphic, the total number of alleles per locus varied between eight and 20, and overall heterozygosity at each locus ranged between 0.501 and 0.858. The intra-population diversity was also generally high, with expected heterozygosity varying between 0.367 and 0.891, depending on locus and population (Table 2).

Inter-lake differentiation

The genetic differentiation between brook trout from the two lakes was highly significant at all loci based on allele frequencies (Table 3). Microsatellite markers used in this study thus revealed a high degree of differentiation between these isolated populations. F -statistics revealed an overall moderate but highly significant estimate based either on allelic or molecular variance analyses (Table 4). For a single locus, θ values ranged between 0.0255 (Sfo-8) and 0.1150 (Sfo-18), while Φ values varied between 0.0123 (Sfo-23) and 0.2483 (Sfo-18). Three of the five loci indicated higher estimates with molecular variance analysis. The estimate with pooled loci was also higher using molecular variance analysis.

Intra-lake differentiation

The genetic differentiation between littoral and pelagic groups based on allele frequencies was statistically significant for two of the five loci in Lake Bondi (Table 3). No significant differentiation of allele frequencies was detected between the two groups in Lake Ledoux (Table 3). Departures from HW equilibrium due to heterozygote deficiency were observed within both Lake Bondi and Lake Ledoux when all fish were pooled (Table 5). This indicates a departure from HW genotypic frequency expectations due to heterozygote deficiency. F -statistics also revealed positive F_{is} estimates for each locus of both populations except for MST-85 of Lake Ledoux ($F_{is} = -0.070, p = 0.985$; Table 5). However, only MST-85 (Lake Bondi, $F_{is} = 0.187$) and Sfo-12 (Lake Ledoux, $F_{is} = 0.136$) were statistically significant ($p < 0.05$).

Table 1. Number of alleles (A), range of allele size in base pairs, and overall expected heterozygosity (H_e) for the different microsatellite loci used in the study of brook charr populations of lakes Bondi and Ledoux.

Loci	A	Size	H_e
Sfo-8	17	202-308	0.858
Sfo-12	8	197-273	0.546
Sfo-18	9	171-187	0.619
Sfo-23	20	143-221	0.855
MST-85	13	168-202	0.501

Table 2. Sample size (n), total number of alleles (A), and observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosity by locus for brook charr from lakes Bondi and Ledoux (pooled groups) and divided by groups (littoral and pelagic) within each lake. Allele frequencies are available upon request.

Locus / Allele	Inter-lake comparisons		Inter-group comparisons			
	Bondi	Ledoux	Bondi		Ledoux	
			littoral	pelagic	Littoral	Pelagic
n	87	61	46	41	32	29
Sfo-8						
A	12	14	11	9	11	12
H_o	0.805	0.869	0.739	0.878	0.875	0.862
H_e	0.818	0.889	0.824	0.803	0.882	0.900
Sfo-12						
A	7	6	7	7	5	6
H_o	0.609	0.344	0.630	0.585	0.313	0.379
H_e	0.625	0.398	0.587	0.661	0.393	0.410
Sfo-18						
A	6	7	5	4	7	6
H_o	0.494	0.606	0.478	0.512	0.656	0.552
H_e	0.504	0.692	0.476	0.537	0.672	0.684
Sfo-23						
A	14	17	12	10	12	16
H_o	0.713	0.853	0.739	0.683	0.813	0.897
H_e	0.792	0.891	0.812	0.775	0.898	0.881
MST-85						
A	9	10	7	8	9	9
H_o	0.299	0.689	0.348	0.244	0.688	0.690
H_e	0.367	0.644	0.401	0.329	0.612	0.681
Total						
Mean A	9.6	10.8	8.4	7.6	8.8	9.8
Mean H_o	0.584	0.672	0.587	0.581	0.669	0.676
Mean H_e	0.621	0.703	0.620	0.621	0.692	0.711

Table 3. Genetic differentiation based on statistical significance of allele frequency distribution (p) estimated for the two brook charr populations (Lake Bondi versus Lake Ledoux) and the two groups (littoral versus pelagic) within each lake.

Loci	Inter-lake comparisons		Inter-group comparisons			
	Bondi	Ledoux	Bondi		Ledoux	
			littoral	pelagic	littoral	Pelagic
Sfo-8	< 0.000001		0.04556		0.18728	
Sfo-12	< 0.000001		0.01200		0.95126	
Sfo-18	< 0.000001		0.45944		0.08252	
Sfo-23	< 0.000001		0.54336		0.25730	
MST-85	< 0.000001		0.39886		0.63106	

By splitting the population of Lake Bondi into littoral and pelagic groups, the significant overall F_{is} (for pooled loci) disappeared (Table 5). A different scenario was observed in Lake Ledoux, where F_{is} remained significant within the littoral group, mainly because of the HW disequilibrium at Sfo-8 and Sfo-12 (Table 5).

The genetic structure parameters computed for populations separated into littoral and pelagic groups were weak and not significant ($p < 0.05$) for both θ and Φ estimates (Table 4). The higher values observed in Lake Bondi were obtained by molecular variance analysis for both a single locus (Sfo-23; $\Phi = 0.0126$) and pooled loci ($\Phi = 0.0094$). In Lake Ledoux, only two of the five loci showed structure indices above zero (Table 4). Once again, for a single locus, higher values were obtained from the analysis based on molecular variance (Sfo-18, $\Phi = 0.1036$; Sfo-23, $\Phi = 0.0335$). However, the overall analysis for pooled loci revealed higher values with allelic rather than molecular variance analysis.

Table 4. Degree of population genetic structure based on allelic (θ ; Weir and Cockeran 1984) and molecular (Φ ; Excoffier et al. 1992) variance assessed from the two brook charr populations (lakes Bondi and Ledoux) and the two groups (littoral and pelagic) within each lake.

Loci	Inter-lake comparisons		Inter-group comparisons			
	Bondi vs Ledoux		Bondi		Ledoux	
	θ	Φ	θ	Φ	θ	Φ
Sfo-8	0.0255	0.1497	0.0077	0.0082	0.0000	0.0000
Sfo-12	0.0521	0.1594	0.0112	0.0105	0.0000	0.0000
Sfo-18	0.1150	0.2483	0.0000	0.0000	0.0394	0.1036
Sfo-23	0.0499	0.0123	0.0000	0.0126	0.0007	0.0335
MST-85	0.0764	0.0134	0.0012	0.0066	0.0000	0.0000
Global	0.0604*	0.1385*	0.0027	0.0094	0.0050	0.0000

* $p < 0.000001$

Table 5. Allelic correlation within individuals (F_{is} ; Weir and Cockeran 1984) estimated from all fish pooled within lakes Bondi and Ledoux and between the two groups (littoral and pelagic) within each lake.

Loci	Inter-lake comparisons		Inter-group comparisons			
	Bondi	Ledoux	Bondi		Ledoux	
			littoral	pelagic	littoral	Pelagic
Sfo-8	0.016	0.023	0.104	-0.094	0.008*	0.042
Sfo-12	0.026	0.136*	-0.075	0.115	0.208*	0.075
Sfo-18	0.020	0.124	-0.005	0.047	0.023	0.196
Sfo-23	0.101	0.044	0.090	0.120	0.097	-0.017
MST-85	0.187*	-0.070	0.133	0.260*	-0.125	-0.013
Global	0.070*	0.051*	0.049	0.090	0.042**	0.057

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

DISCUSSION

Microsatellite diversity in brook trout

The microsatellite polymorphism observed in this study is congruent with the few studies conducted on northern freshwater fish species using microsatellite markers. For example, in a study of brook trout from the Parc National de la Mauricie, Angers and Bernatchez (in press) reported the number of alleles per locus varying between five and 18 and an overall heterozygosity ranging between 0.40 and 0.85. In another study on landlocked Atlantic salmon, *Salmo salar*, of Lac Saint-Jean, Tessier et al. (1997) observed between two and 17 alleles per locus and an overall heterozygosity varying between 0.49 and 0.91. McConnel et al. (1995) also identified between three and 16 alleles per locus and heterozygosity estimates ranging between 0.30 and 0.89 for Atlantic salmon populations from Nova Scotia.

Lakes Bondi and Ledoux were formed after the sheets of ice that covered North America retreated about 15 000 years ago. These lakes were subsequently colonized by brook trout from glacial refugia (Lacasse and Magnan 1994; Angers and Bernatchez in press) and have remained physically isolated from each other since that time. Microsatellites used in this study have proven their sensitivity by detecting large differences in allele frequencies between brook trout from each of these lakes at all loci. It appears that genetic differences likely reflect the effects of drift and mutation acting differently on these populations between which gene flow has been restricted. This result supports the view of Angers et al. (1995) and Angers and Bernatchez (in press) about the usefulness of microsatellites for assessing differentiation among recently diverged brook trout populations.

Genetic differentiation between forms

The genetic measurements used in this study suggest that the littoral and pelagic groups in Lake Bondi represent two partially reproductively isolated and nonrandomly mating populations. Genetic differentiation between the two groups was supported by differences in allele frequencies and by deviation from HW equilibrium when pooling the two groups; no such deviation was observed when fish were divided into littoral and pelagic groups. Detecting a departure from HW

equilibrium is one of the first steps in detecting differences in genetic population structure (Raymond and Rousset 1995). In verifying the origin of such a disequilibrium, the F -statistics revealed a highly significant positive F_{is} estimate for pooled loci. That indicates an overall departure from HW genotypic frequency expectations due to heterozygote deficiency, indicating the nonrandom union of gametes within Lake Bondi and supporting the hypothesis that this lake is formed of diverse groups of fishes (Venne and Magnan 1995).

Alternative explanations could account for heterozygote deficiency, but these appear less probable in the present context. For instance, HW disequilibrium could be due to temporal variations in allele frequencies. However, it is difficult to imagine a scenario involving stochastic temporal variation because sampling of the YOY was done in the same year for both groups, which insures that the same cohorts were used for the comparisons. Null alleles can also create an apparent heterozygote deficiency because they can only be detected in the homozygote; they have been regularly reported as an explanation for observed heterozygote deficiency (e.g., O'Reilly and Wright 1995; Garcia et al. 1997). Null alleles cannot empirically be ruled out, but appear unlikely in the present case. First, the heterozygote deficiency observed was caused by different loci in fish from the two lakes, which would imply detectable null alleles at some loci and the differential absence of these alleles depending on groups. Second, no null alleles were observed by Angers et al. (1995) and Angers and Bernatchez (in press), where the same loci were screened in 26 geographically close brook trout populations. Stochastic departures from HW equilibrium are also expected to occur in small populations. However, our results showed that the significant positive F_{is} disappeared when the HW equilibrium was computed considering both groups separately. If the small population size was responsible for the heterozygote deficiency, the probability of obtaining significant F_{is} estimates would be even higher with split groups, since populations would be smaller. In addition, stochastic disequilibrium would be expected to equally imply excesses or deficiencies of heterozygotes, which was obviously not the case here. Thus, although these factors could still partly explain the observed heterozygote deficiency in Lake Bondi, it appears more plausible that they mainly reflect the mixture of two genetically distinct forms, littoral and pelagic. In contrast to Lake Bondi, no clear evidence of genetic differentiation was observed in Lake Ledoux. First, no significant differentiation in allele

frequencies was detected between the two groups. Second, when HW equilibrium was tested for littoral and pelagic groups separately, F_{is} remained significant within the littoral group. These results indicate that the intra-lake heterogeneity revealed by the overall heterozygote deficiency do not correspond to the classification based on spatial distribution of individuals (littoral or pelagic). Thus, this study does not allow one to conclude that fish from the two zones represent two genetically different populations. These results do not agree with those of Bourke et al. (1997), who reported different groups of adult brook trout in Lake Ledoux based on differences in habitat use and morphology. As our classification was based on the capture zone (littoral versus pelagic), the significant overall positive F_{is} estimate detected in the littoral group could be explained by the presence of pelagic individuals in this zone. Bourke et al. (1997) observed that littoral individuals were localized in the littoral zone 82% of the time and pelagic individuals in the pelagic zone 69% of the time, indicating some movement of fish from both groups between the two zones (pelagic individuals being less faithful to their zone than littoral ones). Such a mixture of individuals reduces the chance of detecting small differences in allele frequencies. Further work will be needed to confirm the presence of two genetically different forms of brook trout in Lake Ledoux by basing the classification on either 0+ individuals, which are presumably less mobile, or on a higher number of adults to increase the power of discriminant analyses.

Evolutionary divergence of brook trout in Lake Bondi

While there is evidence of genetic differentiation between forms in Lake Bondi, the genetic structure parameters (θ and Φ) revealed that the degree of divergence is more subtle than generally observed in other sympatric pairs of northern freshwater fish (Schluter and McPhail 1993; Taylor and Bentzen 1993a,b; Snorrason et al. 1994; Chouinard et al. 1996; Bernatchez et al. 1996; Pigeon et al. 1997). Such low population genetic structure may suggest that reproductive isolation is incomplete and that gene flow is still occurring between the two forms.

Bernatchez et al. (1996) hypothesized that sympatric morphotypes found in lakes with greater opportunities for trophic niche partitioning should have evolved more specialized traits for occupying these niches and that selective pressures should favor the reinforcement of isolating mechanisms to maintain these differences. Similarly, the partial reproductive isolation detected

in Lake Bondi could be a consequence of directional selective pressures imposed by the need to maintain trophic specialization between the two forms, has recently proposed to explain the correlation between morphological and genetic divergence among sympatric ecotypes in whitefish (Bernatchez et al. 1996; Chouinard et al. 1996; Pigeon et al. 1997). Taken together, the ecological and genetic data suggest that brook trout from Lake Bondi have developed adaptations associated with habitat segregation (littoral and pelagic), and directional selective pressure may have been sufficient to maintain trophic specialization and produce genetic differences between them. Such trophic specialization based on segregation by habitats appears very early in the life history of brook trout (McLaughlin and Grant 1994; Venne and Magnan 1995).

When considering all sympatric forms of north temperate freshwater fish that have been genetically characterized, there appears to be a continuum in the extent of genetic differentiation among sympatric populations (discussed in Hindar 1994 and Chouinard et al. 1996). With an interpopulation component of genetic variance less than 1%, brook trout forms from Lake Bondi seem to represent the lower end of this continuum. The process of divergence may be related to the level of ecological stability, discreteness of niches, and perhaps in some cases to the age of the freshwater system (Skúlason et al. 1993). According to this hypothesis, the two forms observed in Lake Bondi may represent an early phase of trophic specialization, where the pelagic specialization may have evolved in the absence of interspecific competition and been driven by both intraspecific competition and the availability of an empty planktonic trophic niche (Robinson and Wilson 1994; Skúlason and Smith 1995). In a recent review of character release and displacement in fishes, Robinson and Wilson (1994) showed that such trophic specialization is common in species-poor lakes and almost always includes benthic and pelagic forms. Although the results reported here are limited to a single case, they suggest that brook trout inhabiting oligotrophic lakes may exhibit trophic polymorphism associated with slightly genetically differentiated and nonrandomly mating groups of fishes.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank D. Boula, E. Dufour, P. East, P. Lemay, and S. Verville for their field assistance, and B. Angers, the late A. Chouinard, S. Martin, and N. Tessier for their help with genetic analyses. This research was supported by grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council (NSERC) of Canada and le Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche (FCAR), Québec Government, to P. Magnan and L. Bernatchez. J. Dynes was supported by post-graduate fellowships from la Fondation Universitaire du centre du Québec and the program Intervention Spéciale de l'Université du Québec à Trois-Rivières.

REFERENCES

- Angers, B., and Bernatchez, L. 1997. Combined use of SMM and non-SMM methods in inferring fine structure and evolutionary history of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) populations with microsatellites. *Mol. Biol. Evol.* In press.
- Angers, B., Bernatchez, L., Angers, A., and Desgroseillers, L. 1995. Specific microsatellite loci for brook charr reveal strong population subdivision on a microgeographic scale. *J. Fish Biol.* **47**(Suppl. A): 177-185.
- Bernatchez, L., and Dodson, J.J. 1990. Allopatric origin of sympatric populations of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) as revealed by mitochondrial-DNA restriction analysis. *Evolution*, **44**: 1263-1271.
- Bernatchez, L., Guyomard, R., and Bonhomme, F. 1992. DNA sequence variation of the mitochondrial control region among geographically and morphologically remote European brown trout *Salmo trutta* populations. *Mol. Ecol.* **1**: 161-173.
- Bernatchez, L., Vuorinen, J.A., Bodaly, R.A., and Dodson, J.J. 1996. Genetic evidence for reproductive isolation and multiple origins of sympatric trophic ecotypes of whitefish (*Coregonus*). *Evolution*, **50**: 624-635.
- Bourke, P., Magnan, P., and Rodriguez, M.A. 1997. Individual variations in habitat use and morphology in brook charr. *J. Fish Biol.* **50**: In press.

- Chouinard, A., Pigeon, D., and Bernatchez, L. 1996. Lack of specialization in trophic morphology between genetically differentiated dwarf and normal forms of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis* Mitchell) in Lac de l'Est, Québec. *Can. J. Zool.* **74**: 1989-1998.
- Crowder, L.B. 1984. Character displacement and habitat shift in a native cisco in southeastern Lake Michigan: evidence for competition? *Copeia*, 1984: 878-883.
- Danzmann, R.G., Liskauskas, A.P., Gerrits, M., Barrette, R., and Hebert, P.D.N. 1991. An analysis of mitochondrial DNA variability in Ontario hatchery strains of brook charr (*Salvelinus fontinalis*). Ontario Ministry of Natural Resources. 36 p.
- Excoffier, L., Smouse, P.E., and Quattro, J.M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, **131**: 479-491.
- Ferguson, M.M., Danzmann, R.G., and Hutchings, J.A. 1991. Incongruent estimates of population differentiation among brook charr, *Salvelinus fontinalis*, from Cape Race, Newfoundland, Canada, based upon allozyme and mitochondrial DNA variation. *J. Fish Biol.* **39**(Suppl. A): 79-92.
- García de León, F.J., Chikhi, L., and Bonhomme, F. 1997. Microsatellite polymorphism and population subdivision in natural populations of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Mol. Ecol.* **6**: 51-62.
- Guo, S.W., and Thompson, E.A. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiples alleles. *Biometrics*, **48**: 361-372.
- Hindar, K. 1994. Alternative life histories and genetic conservation. In *Conservation genetics*. Edited by V. Loeschke, J. Tomink, and S. K. Jain. Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland. pp. 323-336
- Hindar, K., and Jonsson, B. 1982. Habitat and food segregation of the dwarf and normal Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) from Vangsvatnet Lake, western Norway. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **39**: 1030-1045.
- Lacasse, S., and Magnan, P. 1992. Biotic and abiotic determinants of the diet of brook charr, *Salvelinus fontinalis*, in lakes of the Laurentian Shield. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **49**: 1001-1009.

- Lacasse, S. and Magnan, P. 1994. Distribution post-glacielle de l'omble de fontaine dans le bassin hydrographique du fleuve Saint-Laurent : Impact des interventions humaines. Université du Québec à Trois-Rivières. Report presented to the Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec. 83 p.
- McConnell, S.K., O'Reilly, P., Hamilton, L., Wright, J.N., and Bentzen, P. 1995. Polymorphic microsatellite loci from Atlantic salmon (*Salmo salar*): genetic differentiation of North American and European populations. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **52**: 1863-1872.
- McLaughlin, R.L., and Grant, J.W.A. 1994. Morphological and behavioural differences among recently-emerged brook charr, *Salvelinus fontinalis*, foraging in slow- vs fast-running water. *Environ. Biol. Fishes*, **39**: 289-300.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- O'Connor, J.F., and Power, G. 1973. Homing of brook trout, *Salvelinus fontinalis*, in Matamek Lake, Québec. *J. Fish. Res. Board Can.* **30**: 1012-1014.
- O'Reilly, P., and Wright, J.M. 1995. The evolving technology of DNA fingerprinting and its application to fisheries and aquaculture. *J. Fish Biol.* **47**(Suppl. A): 29-55.
- Pigeon, D., Chouinard, A., and Bernatchez, L. 1997. Multiple modes of speciation involved in the parallel evolution of sympatric dwarf and normal morphotypes of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*, Salmonidae). *Evolution*, **51**: 196-205.
- Presas, P., and Guyomard, R. 1996. Conservation of microsatellites in three species of salmonids. *J. Fish Biol.* **49**: 1326-1329.
- Raymond, M., and Rousset, F. 1995. GENEPOP version 1.2: Population genetics software for exact test and ecumenism. *J. Hered.* **86**: 248-249.
- Robinson, B.W., and Wilson, D.S. 1994. Character release and displacement in fishes: a neglected literature. *Am. Nat.* **144**: 596-627.
- Robinson, B.W., Wilson, D.S., Margosian A.S., and Lotito, P.T. 1993. Ecological and morphological differentiation of pumpkinseed sunfish in lakes without bluegill sunfish. *Evol. Ecol.* **7**: 451-464.
- Schlüter, D., and McPhail, J.D. 1993. Character displacement and replicate adaptive radiation. *Trends Ecol. Evol.* **8**: 197-200.
- Schneider, S., Kueffer, J.-M., Roessli, D., and Excoffier, L. 1997. ARLEQUIN version 1.0: an

- exploratory population genetics software environment. Genetics and Biometry Laboratory. University of Geneva, Switzerland.
- Skúlason, S., and Smith, T.B. 1995. Resource polymorphisms in vertebrates. *Trends Ecol. Evol.* **10**: 366-370.
- Skúlason, S., Snorrason, S.S., Ota, D., and Noakes, D.L.G. 1993. Genetically based differences in foraging behaviour among sympatric morphs of Arctic charr (Pisces: Salmonidae). *Anim. Behav.* **45**: 1179-1192.
- Snorrason, S.S., Skúlason, S., Jonsson, B., Malmquist, H.J., Jónasson, P.M., Sandlund, O.T., and Lindem, T. 1994. Specialization in Arctic charr (Pisces: Salmonidae): ontogenetic niche shifts and morphological divergence. *Biol. J. Linn. Soc.* **52**: 1-18.
- Taylor, E.B., and Bentzen, P. 1993a. Evidence for multiple origins and sympatric divergence of trophic ecotypes of smelt (*Osmerus*) in northeastern North America. *Evolution*, **47**: 813-832.
- Taylor, E.B., and Bentzen, P. 1993b. Molecular genetic evidence for reproductive isolation between sympatric populations of smelt (*Osmerus*) in Lake Utopia, south-western New Brunswick, Canada. *Mol. Ecol.* **2**: 345-357.
- Tessier, N., Bernatchez, L., and Wright, J.M. 1997. Population structure and impact of supportive breeding inferred from mitochondrial and microsatellite DNA analyses in landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Mol. Ecol.* **6**: 735-750.
- Venne, H., and Magnan, P. 1995. The impact of intra- and interspecific interactions on young-of-the-year brook charr, in temperate lakes. *J. Fish Biol.* **46**: 669-686.
- Walker, A.F., Greer, R.B., and Gardner, A.S. 1988. The ecologically distinct forms of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), in Loch Rannoch, Scotland. *Biol. Conserv.* **43**: 43-61.
- Weir, B.S., and Cockerham, C.C. 1984. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**: 1358-1370.

CHAPITRE 2

**Morphological variation between two forms of lacustrine
brook trout, *Salvelinus fontinalis***

by

Jessy Dynes¹, Pierre Magnan¹, and Marco A. Rodriguez²

¹ *Département de chimie-biologie*

Université du Québec à Trois-Rivières

C.P. 500, Trois-Rivières (Québec)

G9A 5H7, Canada

² *Département de biologie et des sciences de la santé*

Université du Québec à Rimouski

C.P. 3300, Rimouski (Québec)

G5L 3A1, Canada

ABSTRACT

Recent studies indicated that brook trout inhabiting oligotrophic lakes of the Canadian Shield exhibit trophic polymorphisms, with some individuals better adapted to feeding in the littoral zone and others better adapted to feeding in the pelagic zone. The objective of the present study was to determine more specifically the extent of morphological differences between littoral and pelagic brook trout from two lakes of the Canadian Shield. Discriminant function analyses of morphological characters support the existence of littoral and pelagic groups in lakes Bondi and Ledoux. Among juveniles (0+ age class) of Lake Bondi, the two groups differed significantly in two shape variables (pelagic fish had shorter dorsal fins, and longer body length posterior to the dorsal fin than littoral ones) whereas among adults of Lake Ledoux, the groups differed in four shape variables (pelagic fish had shorter pectoral fins, shorter dorsal fins, and a shorter and higher caudal peduncle than littoral ones). Discriminant analyses of these characters were effective in reclassifying fish into their appropriate groups in both populations, with an efficiency of 78% for juveniles in Lake Bondi and 69% for adults in Lake Ledoux. Differences in morphology between the two forms are consistent with adaptations required to forage in each zone, i.e. benthic form in the littoral zone and planktivorous form in the pelagic zone.

INTRODUCTION

Recent reviews indicate that trophic polymorphisms may be more the rule than the exception among vertebrates (Robinson and Wilson, 1994; Wimberger; 1994; Skúlason and Smith, 1995). In fish, there are essentially two kinds of trophic polymorphism; one involves sharp differences between forms or morphs (e.g. Snorrason *et al.*, 1989; Skúlason *et al.*, 1993) while the other is much more subtle (e.g. Ehlinger and Wilson, 1988; Robinson *et al.*, 1993) and for this reason, is probably often overlooked. Whether they are subtle or sharp, intraspecific differences usually take the form of sympatric pairs of morphs, often found in postglacial lakes (10 000 - 15 000 years old) of the northern hemisphere (Wood and Foote, 1990; Schluter and McPhail, 1993; Taylor and Bentzen, 1993a; Snorrason *et al.*, 1994; Chouinard *et al.*, 1996). In several freshwater lakes, single-species populations are composed of both open water types ("limnetic" or "pelagic" forms) and shallow water types ("benthic" or "littoral" forms; reviewed in Robinson and Wilson, 1994). Furthermore, sympatric pairs can also include both "normal" and "dwarf" morphotypes (Hindar and Jonsson, 1982; Bernatchez and Dodson, 1990; Taylor and Bentzen, 1993b). In general, these forms share resources by developing specific local adaptations to different habitats, such as variations in spatial distribution and feeding habits (Bodaly, 1979; Robinson *et al.*, 1993; Schluter and McPhail, 1993; Skúlason *et al.*, 1993).

In salmonids, the existence of sympatric forms does not necessarily imply geographic separation, but can be solely the result of contrasting selection pressures in different habitats (Swain and Holty, 1989) or character displacement (Snorrason *et al.*, 1989). Recent observations indicate that brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill), exhibit interindividual differences in spatial distribution and diet in several lakes of the Canadian Shield. Venne and Magnan (1995) found that juvenile brook trout (0+ age class) of Lake Bondi were divided spatially into two groups. The first group, called "littoral", was found between 0 and 2 m depth while the other group, called "profundal" (equivalent to "open water" types in other studies), was found between 3 and 6 m depth. The two groups differed in their feeding habits as well as in some morphological characters (Venne and Magnan, 1995). A discriminant function analysis, based on 21 meristic and morphometric characters, retained mouth height, basal length of the dorsal fin, eye-snout

distance, and operculum-snout distance as the most discriminating characters and, although not statistically significant, allowed 90% of individuals to be correctly reclassified into the appropriate group (M. A. Rodríguez, J.-F. Duchesne and P. Magnan, unpublished data). This result suggests a real morphometric difference between the two groups but a sample size too small to attain significance (this analysis was performed from measurements of only 20 specimens of each group; Venne and Magnan, 1995). Bourke *et al.* (1997) also observed interindividual differences in habitat use in two other Quebec lakes using radio-telemetry. Interindividual differences in habitat preference of fish were related to functional differences in body morphology and coloration; the pectoral fins of benthic and generalist individuals were significantly longer than those of pelagic ones. Furthermore, the coloration of the lower flank of benthic and generalist individuals was silver-grey while that of pelagic ones was red, which was attributed to a diet rich in zooplankton in the latter group (Bourke *et al.*, 1997). These studies therefore indicated that brook trout inhabiting oligotrophic lakes of the Canadian Shield exhibit trophic polymorphisms, with some individuals adapted to feeding in the littoral zone and others adapted to feeding in the pelagic zone (Venne and Magnan, 1995; Bourke *et al.*, 1997). The results of Dynes *et al.* (1998) support the existence of such a polymorphism, as genetic differentiation was found between littoral and pelagic individuals in Lake Bondi, based on microsatellite DNA variation. This trophic polymorphism may have evolved in response to interactions among individuals, and could be based on intraspecific competition for food (Berg, 1970; Crowder, 1984; Magnan, 1988; Magnan and Stevens, 1992).

The objective of the present study was to investigate more specifically the extent of morphological differences between littoral and pelagic brook trout from the two lakes studied by Venne and Magnan (1995) and Bourke *et al.* (1997).

MATERIALS AND METHODS

Study lakes

The study was done in lakes Bondi and Ledoux, located in the Mastigouche Reserve, north of Trois-Rivières (Québec) Canada (46°40'N, 73°20'W). These are characteristic of small

oligotrophic temperate lakes with respect to surface area (23.3 and 11.9 ha), mean depth (8.0 and 5.5 m), conductivity (17.1 and 21.2 $\mu\text{S cm}^{-1}$), dissolved oxygen, thermal stratification, and Secchi disk transparency (Lacasse and Magnan, 1992). Northern redbelly dace, *Phoxinus eos* (Cope), is the only other fish in the lakes.

Fish sampling

Fish were collected on June 25-26 and between August 8-21, 1996. The study included two age groups of brook trout, young-of-the-year (YOY; 0+ age class) in Lake Bondi and adults (3+ and older) in Lake Ledoux. The groups selected for this study corresponded to those studied by Venne and Magnan (1995) (YOY) and Bourke et al. (1997) (3+ and older). In Lake Bondi, fish were caught with multifilament (9.9 m long x 1.8 m deep) and monofilament gillnets (7.5 m and 15 m long x 1.8 m deep; filament diameter of 0.13 mm), both with stretched meshes of 15.9 mm. In Lake Ledoux, fish were captured with multifilament gillnets (32 m long x 2 m deep) with stretched meshes of 60, 76, 90, and 100 mm (filament diameters of 0.17, 0.20, 0.20, and 0.25 mm respectively).

The sampling areas were chosen to cover the littoral (< 2 m) and the pelagic (> 3 m for YOY and > 4 m for adults) areas, without overlapping. In Lake Bondi, gillnets were set in daytime at 11 stations distributed around the lake while in Lake Ledoux they were mainly set at nighttime at four stations. In both lakes, the nets were removed every two or three hours to keep fish in good condition for further analyses. Fish were measured, weighed, photographed, and kept on ice before being frozen.

Morphological measurements

In the laboratory, the left side of all fish was photographed against an horizontal light-blue background using a fixed Minolta X-700 35-mm camera equipped with a Minolta 50-mm macrolens and a ring flash. Fish were photographed with the pectoral and pelvic fins oriented approximately parallel to the main body axis in a natural position, and with the caudal and dorsal fins extended. Coloured pins were inserted in the anterior end of the anal and dorsal fins, as well as at the junction of the head and the body to insure that body landmarks would be easily

visualized. On each photograph, a millimeter ruler placed beside specimens provided scale, and a numbered card provided individual identification for cross-reference with biological data.

Morphological structures associated with swimming and trophic characteristics were investigated to differentiate littoral and pelagic individuals in both lakes. To examine shape characters related to swimming (body and fin measurements), morphometric measurements were made with a microcomputer system for image analysis (high-performance color CCD camera, Cohu model 8285; Targa Plus frame grabber; version 1.2 of Mocha software). Spatial x-y coordinates of 64 YOY and 60 adult body landmarks were recorded. From these landmark coordinates, both conventional (Hubbs and Lagler, 1947) and truss distances (Strauss and Bookstein, 1982) were obtained (Fig. 1). Measurements were also made of trophic structures associated with feeding habits of 97 YOY and 61 adults. First, mouth width and length were measured to the nearest 0.01 millimeter using a digital caliper. Second, the length of the longest gill raker was measured at the bend of the first gill arch, using an ocular micrometer (± 0.05 mm) mounted on a 10X compound microscope.

Statistical analyses

It has been suggested that in morphometric studies, populations should be compared in terms of shape variates, free from the effects of size variation (Reist, 1985; 1986). The effect of size on body and fin measurements was removed by use of a regression technique (Fleming *et al.*, 1994). The data were first transformed to natural logarithms and standardized to a mean of 0 and standard deviation of 1. Each morphometric character was then transformed into a shape variate (regression residuals) by expressing it as the deviation of individuals from the pooled within-group regression line describing the relationship between the character and standard length (Reist, 1986). This deviation, orthogonal to standard length, should be approximately independent of size and reflect residual variation resulting from measurement error and biological deviation of individuals from the predicted character-length relationship (Kuhry and Marcus, 1977). Fleming *et al.* (1994) compared the results from the residual method with those from the sheared principal components and Burnaby methods (Rohlf and Bookstein, 1987) and found that all methods led to similar conclusions.

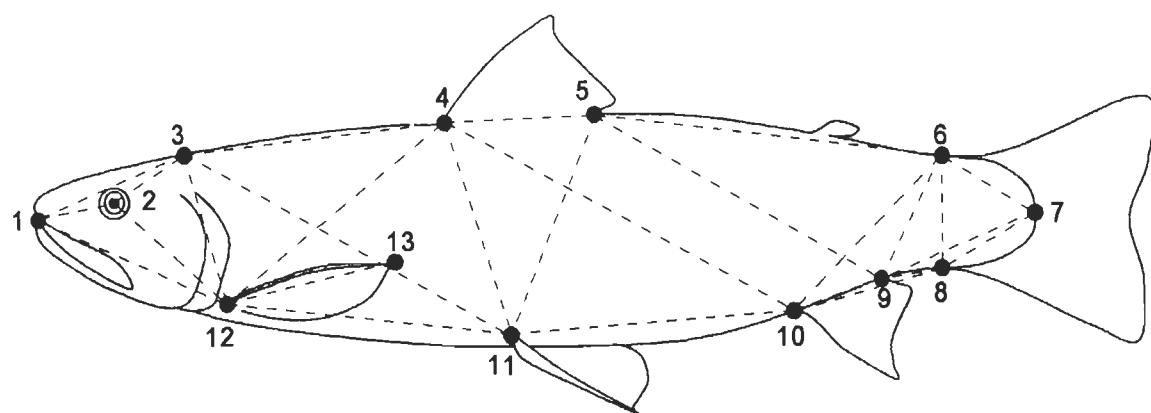


Fig. 1. Location of the 13 body landmarks (points) used to calculate the conventional and truss distances (dashed lines: 27 interpoint distances) included in the discriminant function analyses. Landmarks refer to: (1) anterior tip of snout at upper jaw, (2) center of eye, (3) most posterior aspect of neurocranium, i.e. beginning of scaled nape, (4) origin of dorsal fin, (5) insertion of dorsal fin, (6) anterior attachment of dorsal membrane from caudal fin, (7) base of middle caudal rays, (8) anterior attachment of ventral membrane from caudal fin, (9) insertion of anal fin, (10) origin of anal fin, (11) origin of pelvic fin, (12) origin of pectoral fin, and (13) distal tip of pectoral fin.

To examine morphological differentiation between littoral and pelagic individuals from both lakes, shape variates were analyzed with discriminant function analyses, which determined the most useful traits for separating population groups. Tolerance values were low when all shape variates were included in the model, indicating the presence of collinearity among these variables; therefore, a stepwise procedure was used to eliminate redundant ones. Cutoff significance values for variable selection, *P*-to-enter and *P*-to-remove, were both set to *P*=0.15. Forward and backward methods of variable selection were compared. Final models obtained by the two methods differed little with regard to percentage of correct classification, magnitude of canonical correlations, and sign of canonical coefficients. Therefore, only the final model with the lower *P* value, obtained by forward selection for Lake Bondi and by backward selection for Lake Ledoux, was retained for interpretation.

Analysis of covariance (ANCOVA), with fish length as the covariate, was used to compare the mouth width, mouth length, and gill raker length of littoral and pelagic groups in both lakes (Packard and Broadman, 1987). Values were adjusted to a grand mean fish length of 86 mm (Lake Bondi) or 359 mm (Lake Ledoux). All statistical analyses were performed using SYSTAT for Windows, version 7.

RESULTS

The discriminant function analysis yielded a highly significant difference between the two groups of YOY in Lake Bondi ($F=20.8896$, $P<0.0001$; Table I). Inspection of canonical coefficients revealed that pelagic fish had shorter dorsal fins and longer body length posterior to the dorsal fin than littoral ones (Fig. 1). The *a posteriori* classification accuracy of the discriminant function (jackknife procedure) was high for both groups: 28 of the 35 (80%) littoral individuals and 22 of the 29 (76%) pelagic ones were correctly reclassified, for an overall classification accuracy of 78%. In Lake Ledoux, the discriminant function analysis also yielded a highly significant difference between the two groups of adults ($F=6.3707$, $P<0.0003$; Table I). Canonical coefficients revealed that pelagic fish had shorter pectoral fins, shorter dorsal fins, and a shorter and higher caudal peduncle than pelagic ones (Fig. 1). The *a posteriori* classification accuracy of

Table 1. Results of the discriminant function analyses used to compare shape characters of littoral and pelagic brook trout. Dx-y: distance between landmarks x and y.

Lake	Discriminant	Wilk's	F value	Probability	Canonical
	Variables	lambda			Correlations
Bondi	D4-5	0.5935	20.8896	< 0.00001	0.638
	D5-6				
Ledoux	D12-13	0.6873	6.3707	0.0003	0.559
	D6-8				
	D7-9				
	D4-5				

the discriminant function was slightly lower than in Lake Bondi: 18 of the 28 (67%) littoral individuals and 24 of the 33 (71%) pelagic ones were correctly reclassified, for an overall classification accuracy of 69%. The frequency distributions of discriminant function scores (Figs. 2 and 3) illustrate the overlap between pelagic and littoral groups for the two lakes. The spread of scores along the morphological space defined by the discriminant function is about the same for the two groups (Figs. 2 and 3).

There were no significant differences in the adjusted mouth width, mouth length, and gill raker length of littoral and pelagic groups in either lake (Table II).

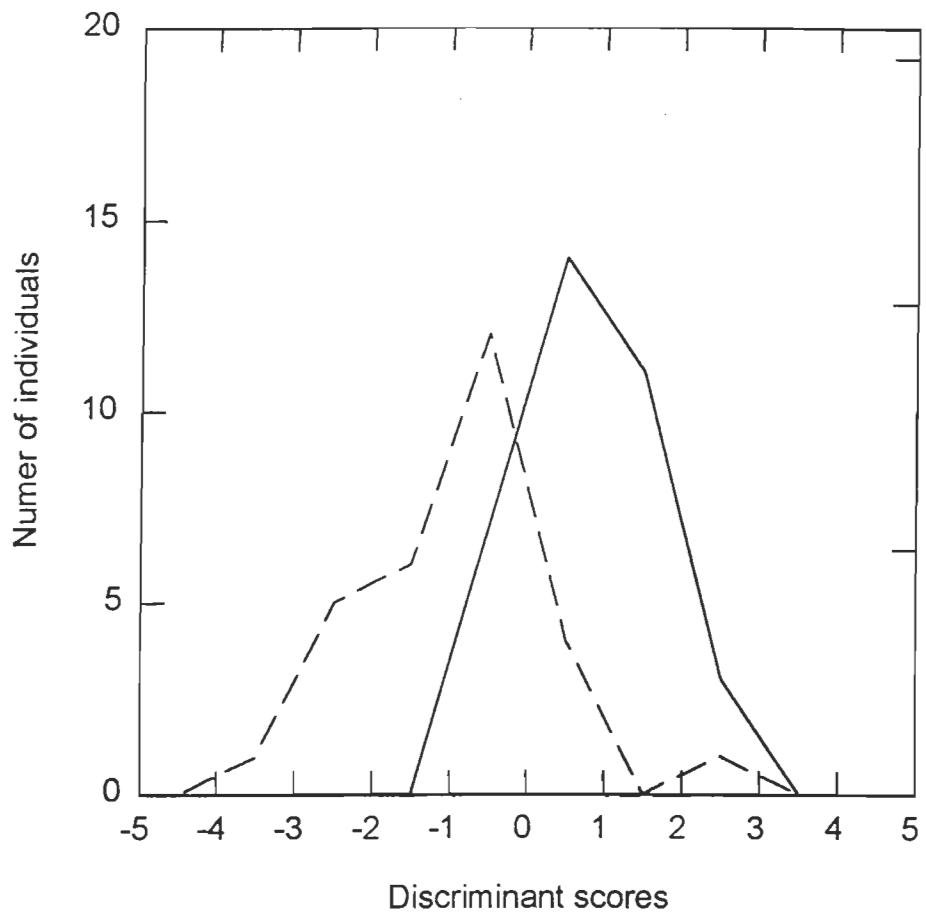


Fig. 2. Frequency distribution of discriminant scores for littoral and pelagic brook trout from Lake Bondi (solid line: littoral group; dashed line: pelagic group).

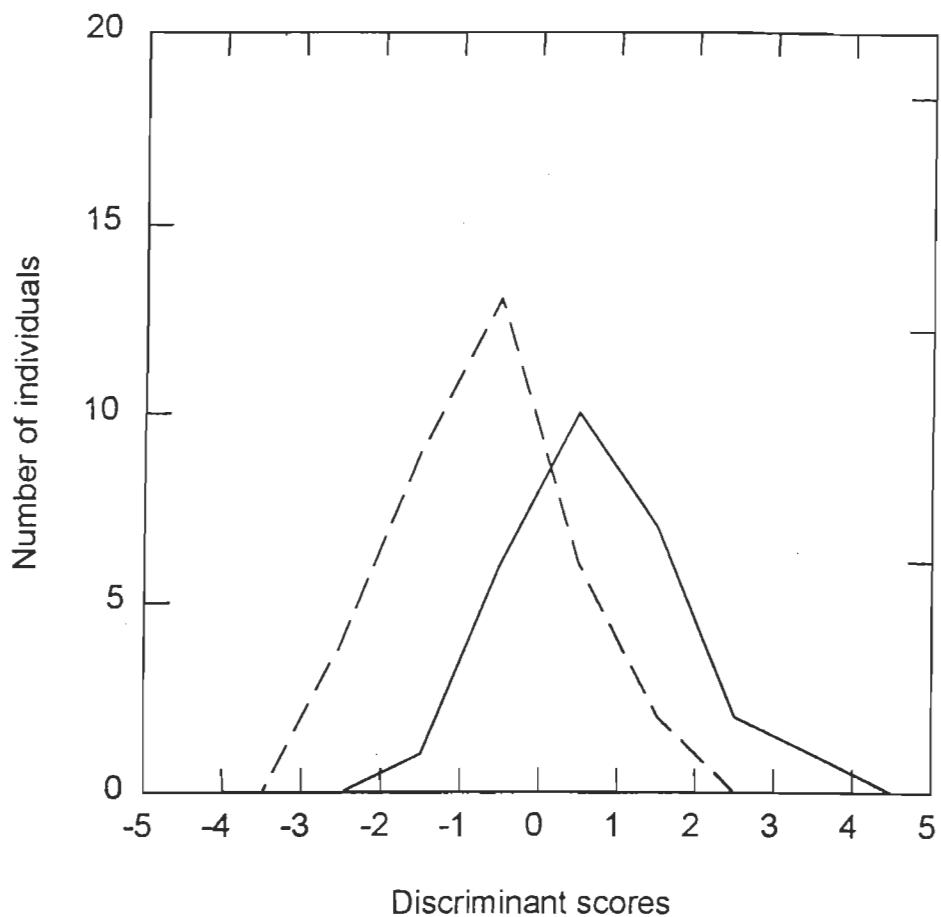


Fig. 3. Frequency distribution of discriminant scores for littoral and pelagic brook trout from Lake Ledoux (solid line: littoral group; dashed line: pelagic group).

Table 2. Adjusted means (\pm SD) of trophic characters of littoral and pelagic brook trout. Means were adjusted to a mean fish length of 86 mm in Lake Bondi and 359 mm in Lake Ledoux. Number of fish is in parentheses.

Lake/ character	Littoral individuals	Pelagic individuals	P
Lake Bondi	(49)	(48)	
Mouth width (mm)	4.26 ± 0.34	4.27 ± 0.32	0.920
Mouth length (mm)	6.57 ± 0.41	6.48 ± 0.45	0.314
Gill raker length (mm)	1.09 ± 0.10	1.06 ± 0.10	0.105
Lake Ledoux	(28)	(33)	
Mouth width (mm)	19.05 ± 1.56	18.79 ± 2.09	0.590
Mouth length (mm)	26.91 ± 3.88	25.44 ± 1.93	0.060
Gill raker length (mm)	3.55 ± 0.33	3.50 ± 0.38	0.593

DISCUSSION

Morphological polymorphism

The analyses of morphological characters of brook trout support the existence of littoral and pelagic groups in lakes Bondi and Ledoux. The YOY of Lake Bondi differed significantly in two variables (pelagic fish had shorter dorsal fins, and longer body length posterior to the dorsal fin than littoral ones) whereas adults of Lake Ledoux differed in four variables (pelagic fish had shorter pectoral fins, shorter dorsal fins, and a shorter and higher caudal peduncle than littoral ones). Discriminant analyses of these characters were effective in reclassifying individuals into their appropriate groups in both populations.

To state that morphological differences between littoral and pelagic individuals represent adaptations to different resources implies that particular morphotypes have higher foraging ability and thus higher fitness, in their respective niche. In Lake Bondi, the efficiency of the pelagic form in searching and feeding on dispersed and mobile prey in open water may be improved by longer body length posterior to the dorsal fin and shorter length of the dorsal fin, which minimize drag and allow for efficient cruising (Gatz, 1979a; Webb, 1984). A shorter dorsal fin was also found in pelagic individuals of Lake Ledoux. This suggests a functional relationship between dorsal fin morphology and habitat preferences of brook trout. The pectoral fin of benthic individuals was longer than that of pelagic ones in Lake Ledoux. Long pectoral fins are related to the slow and precise maneuvering (Gatz, 1979a; Webb, 1982; 1984) required for living in structurally complex habitats and feeding on benthic organisms. A similar relationship between length of pectoral fin and foraging behaviour was found in other freshwater fish, such as pumpkinseed sunfish, *Lepomis gibbosus* (L.) (Ehlinger, 1990) and Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.) (Malmquist *et al.*, 1992), suggesting a strong functional relationship between pectoral fin morphology and feeding tactics in fishes. Morphological differences reported above appear to be specializations to exploit different habitats, with littoral fish being better suited for feeding in structurally complex environments and pelagic fish being better suited for foraging in open water.

In contrast to characters related to locomotion, no significant differences were found in trophic characters between littoral and pelagic forms of brook trout. These results suggest that body traits linked to swimming performance are more important than traits related to feeding ones in these relatively unproductive lakes

Mode of divergence of sympatric morphs

Lakes Bondi and Ledoux were formed after the sheets of ice that covered North America retreated about 15 000 years ago. These lakes were subsequently colonized by brook trout from glacial refugia (Lacasse and Magnan, 1994; Angers and Bernatchez, *in press*). These recent, species-poor lakes offer basically two functional habitats, the littoral and pelagic zones. Soon after the colonization, the brook trout invaders may at first have experienced an ecological vacuum and weak, or no competition. As brook trout populations naturally increased, intraspecific competition intensified (Malmquist *et al.*, 1992, Bourke *et al.* 1998). Van Valen (1965) suggested that under such circumstances, phenotypic variation between individuals should increase, reducing the stress of competition. Based on our knowledge of these lacustrine systems, the scenario of Van Valen (1965) could apply to lakes Bondi and Ledoux. In fact, food segregation may have occurred first through behavioural flexibility of individuals. Behavioural flexibility in fish likely plays an important role in adaptation to resource variability in lakes (e.g. Skúlason *et al.*, 1989). Changes in foraging behaviour may have caused large effects on foraging efficiency (Dill, 1983; Ehlinger, 1989), and behaviour is amenable to more rapid change than morphology. For example, different foraging modes can be used to exploit planktonic and benthic organisms, and fish can switch rapidly between them when moving between habitats (Schluter, 1993). This behavioural change could have been followed by morphological differentiation and the use of different trophic niches. Reproductive isolation could be promoted then by disruptive selection (Wimberger, 1994; Skúlason and Smith, 1995). Bourke *et al.* (1997) and Dynes *et al.* (1998) provided some evidence of reproductive isolation between littoral and pelagic individuals of brook trout. Given initial conditions with different food resources and the absence of competition, one could envision the development of trophic polymorphism in these brook trout populations, an incipient stage in the establishment of niche-specific separation of sympatric forms (Maynard-Smith, 1966).

Intraspecific differences in morphology observed in these lakes support the results of Venne and Magnan (1995), Bourke *et al.* (1997, 1998), and Dynes *et al.* (1998) indicating the presence of a subtle trophic polymorphism in brook trout, in which each form seems to be best adapted to foraging in its own niche, i.e. benthic form in the littoral zone and planktivorous form in the pelagic zone. These lacustrine systems seem to represent early stages of evolutionary divergence in brook trout, making them of particular interest for understanding the processes involved in the early steps of ecological speciation.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank D. Boula, E. Dufour, P. East, P. Lemay, and S. Verville for their field assistance. We also thank P. East and the late A. Chouinard for their help with morphological analyses, and E. Dufour for the fish drawing in this paper. This research was supported by grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council (NSERC) of Canada to P. Magnan and the Communauté scientifique réseau, Université du Québec to P. Magnan and M. A. Rodríguez. J. Dynes was supported by post-graduate fellowships from la Fondation Universitaire du centre du Québec and the program Intervention Spéciale de l'Université du Québec à Trois-Rivières.

REFERENCES

- Angers, B. & Bernatchez, L. (1997). Combined use of SMM and non-SMM methods in inferring fine structure and evolutionary history of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) populations with microsatellites. *Molecular Biology and Evolution*, in press.
- Berg, A. (1970). A comparative study of food and growth, and competition between two species of coregonids introduced into Lake Maggiore, Italy. In *Biology of coregonid fishes* (Lindsey, C. C. & Woods, C. S., eds), pp. 311-346. University of Manitoba Press, Winnipeg.
- Bernatchez, L. & Dodson, J. J. (1990). Allopatric origin of sympatric populations of Lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) as revealed by mitochondrial-DNA restriction analysis. *Evolution* **44**, 1263-1271.
- Bodaly, R. A. (1979). Morphological and ecological divergence within the lake whitefish

- (*Coregonus clupeaformis*) species complex in Yukon territory. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **36**, 1214-1222.
- Bourke, P., Magnan, P. & Rodríguez, M. A. (1997). Individual variations in habitat use and morphology in brook charr. *Journal of Fish Biology* **50**, in press.
- Bourke, P., Magnan, P. & Rodríguez, M. A. (1998). Phenotypic responses of lacustrine brook charr in relation to the intensity of interspecific competition. *Evolutionary Ecology* (accepted for publication).
- Chouinard, A., Pigeon, D. & Bernatchez, L. (1996). Lack of specialization in trophic morphology between genetically differentiated dwarf and normal forms of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis* Mitchell) in Lac de l'Est, Québec. *Canadian Journal of Zoology* **74**, 1989-1998.
- Crowder, L. B. (1984). Character displacement and habitat shift in a native cisco in southeastern Lake Michigan: evidence for competition? *Copeia* **1984**, 878-883.
- Dill, L. M. (1983). Adaptive flexibility in the foraging behavior of fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **40**, 398-408.
- Dynes, J., Bernatchez, L. & Magnan, P. (1998). A microsatellite assessment of genetic differentiation between two forms of lacustrine brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* (submitted for publication).
- Ehlinger, T. J. & Wilson, D. S. (1988). Complex foraging polymorphism in bluegill sunfish. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* **85**, 1878-1882.
- Ehlinger, T. J. (1989). Learning and individual variation in bluegill foraging: habitat-specific techniques. *Animal Behavior* **38**, 643-658.
- Ehlinger, T. J. (1990). Habitat choice and phenotype-limited feeding efficiency in bluegill: individual differences and trophic polymorphism. *Ecology* **71**, 886-896.
- Fleming, I. A. & Gross, M. R. (1989). Evolution of adult female life history and morphology in Pacific salmon (coho: *Oncorhynchus kisutch*). *Evolution* **43**, 141-157.
- Gatz, A. J., Jr. (1979a). Ecological morphology of freshwater stream fishes. *Tulane Studies in Zoology and Botany* **21**, 91-124.
- Gatz, A. J., Jr. (1979b). Community organization in fishes as indicated by morphological features. *Ecology* **60**, 711-718.
- Hindar, K. & Jonsson, B. (1982). Habitat and food segregation of the dwarf and normal Arctic

- charr (*Salvelinus alpinus*) from Vangsvatnet Lake, western Norway. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **39**, 1030-1045.
- Hubbs, C. L. & Lagler, K. F. (1947). Fishes of the Great Lakes region. University of Michigan Press, Ann Arbor, Michigan. 213 p.
- Kuhry, B. & Marcus, L. F. (1977). Bivariate linear models in biometry. *Systematic Zoology* **26**, 201-209
- Lacasse, S. & Magan, P. (1994). Distribution post-glacielle de l'omble de fontaine dans le bassin hydrographique du fleuve Saint-Laurent : Impact des interventions humaines. Université du Québec à Trois-Rivières. Report presented to the Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec. 83 p.
- Lacasse, S. & Magnan, P. (1992). Biotic and abiotic determinants of the diet of brook charr, *Salvelinus fontinalis*, in lakes of the Laurentian Shield. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **49**, 1001-1009.
- Loch, J. S. (1974). Phenotypic variation in the lake whitefish, *Coregonus clupeaformis*, induced by introduction into a new environment. *Journal of the Fisheries Research of Board Canada* **31**, 55-62
- Magnan, P. & Stevens, E. D. (1992). Pyloric caecal morphology of brook charr, *Salvelinus fontinalis*, in relation to diet. *Environmental Biology of Fishes* **36**, 205-210.
- Magnan, P. (1988). Interactions between brook charr, *Salvelinus fontinalis*, and nonsalmonid species: ecological shift, morphological shift, and their impact on zooplankton communities. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **45**, 999-1009.
- Malmquist, H. J., Snorrasson, S. S., Skúlason, S., Jonsson, B., Sandlund, O. T. & Jónasson, P. M. (1992). Diet differentiation in polymorphic Arctic charr in Thingvallavatn, Iceland. *Journal of Animal Ecology* **61**, 21-35.
- Maynard-Smith, J. (1966). Sympatric speciation. *American Naturalist* **100**, 637-650.
- Packard, G. C. & Boardman, T. J. (1987). The misuse of ratios to scale physiological data that vary allometrically with body size. In *New directions in ecological physiology* (Feder, M. E., Bennett, A. F., Burggren, W. W. & Huey, R. B., eds), pp. 216-239. Cambridge University Press, Cambridge.
- Reist, J. D. (1985). An empirical evaluation of several univariate methods that adjust for size

- variation in morphometric data. *Canadian Journal of Zoology* **63**, 1429-1439.
- Reist, J. D. (1986). An empirical evaluation of coefficients used in residual and allometric adjustment of size covariation. *Canadian Journal of Zoology* **64**, 1363-1368.
- Robinson, B. W. & Wilson, D. S. (1994). Character release and displacement in fishes: a neglected literature. *The American Naturalist* **144**, 596-627.
- Robinson, B. W., Wilson, D. S., Margosian, A. S. & Lotito, P. T. (1993). Ecological and morphological differentiation of pumpkinseed sunfish in lakes without bluegill sunfish. *Evolutionary Ecology* **7**, 451-464.
- Rohlf, F. J. & Bookstein, F. L. (1987). A comment on shearing as a method for size correction. *Systematic Zoology* **36**, 356-367
- Schlüter, D. & McPhail, J. D. (1993). Character displacement and replicate adaptive radiation. *Trends in Ecology and Evolution* **8**, 197-200.
- Schlüter, D. (1993). Adaptive radiation in sticklebacks: size, shape, and habitat use efficiency. *Ecology* **74**, 699-709.
- Skúlason, S. & Smith, T. B. (1995). Resource polymorphisms in vertebrates. *Trends in Ecology and Evolution* **10**, 366-370.
- Skúlason, S., Snorrason, S. S., Ota, D. & Noakes, D. L. G. (1993). Genetically based differences in foraging behaviour among sympatric morphs of Arctic charr (Pisces: Salmonidae). *Animal Behaviour* **45**, 1179-1192.
- Snorrason, S. S., Skúlason, S., Jonsson, B., Malmquist, H. J., Jónasson, P. M., Sandlund, O. T. & Lindem, T. (1994). Trophic specialization in Arctic charr *Salvelinus alpinus* (Pisces; Salmonidae): morphological divergence and ontogenetic niche shifts. *Biological Journal of the Linnean Society* **52**, 1-18.
- Snorrason, S. S., Skúlason, S., Sandlund, O. T., Malmquist, H. J., Jonsson, B. & Jónasson, P. M. (1989). Shape polymorphism in Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, in Thingvallavatn, Iceland. *Physiological Ecology of Japan* **1**, 393-404.
- Strauss, R. E. & Bookstein, F. L. (1982). The truss: body form reconstruction in morphometrics. *Systematic Zoology* **31**, 113-135.
- Swain, D. P. & Holtby, L. B. (1989). Differences in morphology and behavior between juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) reared in a lake or in its tributary stream. *Canadian*

- Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **46**, 1406-1414.
- Taylor, E. B. & Bentzen, P. (1993a). Evidence for multiple origins and sympatric divergence of trophic ecotypes of smelt (*Osmerus*) in northeastern North America. *Evolution* **47**, 813-832.
- Taylor, E. B. & Bentzen, P. (1993b). Molecular genetic evidence for reproductive isolation between sympatric populations of smelt (*Osmerus*) in Lake Utopia, south-western New Brunswick, Canada. *Molecular Ecology* **2**, 345-357.
- Van Valen, L. (1965). Morphological variation and width of ecological niche. *American Naturalist* **99**, 377-390.
- Venne, H. & Magnan, P. (1995). The impact of intra- and interspecific interactions on young-of-the-year brook charr, in temperate lakes. *Journal of Fish Biology* **46**, 669-686.
- Webb, P. W. (1982). Locomotor patterns in the evolution of Actinopterygian fishes. *American Zoologist* **22**, 329-342.
- Webb, P. W. (1984). Body form, locomotion and foraging in aquatic vertebrates. *American Zoologist* **24**, 107-120.
- Wimberger, P. H. (1994). Trophic polymorphisms, plasticity, and speciation in vertebrates. In *Advances in fish foraging theory and ecology*. (Stouder, D. J. & Fresh, K., eds), pp. 19-43. Belle Baruch Library in Marine Science. No 18. University of South Carolina Press, Columbia.
- Wood, C. C. & Foot, C. J. (1990). Genetic differences in the early development and growth of sympatric sockeye salmon and kokanee (*Oncorhynchus nerka*), and their hybrids. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **47**, 2250-2260.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Cette étude amène des résultats intéressants et inédits confirmant la présence d'un polymorphisme trophique chez les ombles de fontaine trouvés dans les lacs du bouclier laurentien. Plusieurs revues récentes ont illustré qu'une telle spécialisation est commune dans les lacs oligotrophes, incluant régulièrement des formes littorales et pélagiques. Dans le cas présent, la spécialisation pélagique a probablement évolué à la suite de l'absence de compétition interspécifique, de l'augmentation de la compétition intraspécifique et de la disponibilité d'une niche trophique inoccupée, soit le zooplancton de la zone pélagique. Ces lacs offrent les premiers signes de divergence intra-population chez l'omble de fontaine, ce qui en fait une avenue de recherche intéressante pour comprendre les processus en cause dans les jeunes stades de spéciation écologique.

Les résultats obtenus dans le cadre de ce projet ouvrent la voie à de nombreux autres secteurs de recherche concernant l'étude du polymorphisme trophique chez l'omble de fontaine. D'autres travaux réalisés en milieu naturel et en laboratoire permettront probablement de mieux comprendre les avantages liés à l'utilisation différentielle des ressources ainsi que les mécanismes de radiation adaptative.

RÉFÉRENCES DE L'INTRODUCTION GÉNÉRALE

- Abrams, S. M. 1990. Ecological vs evolutionary consequences of competition. *Oikos* 57 : 147-151.
- Angers, B., Bernatchez, L., Angers, A., et Desgroseillers, L. 1995. Specific microsatellite loci for brook charr reveal strong population subdivision on a microgeographic scale. *Journal of Fish Biology* 47(Suppl. A) : 177-185.
- Angers, B., et Bernatchez, L. 1997. Combined use of SMM and non-SMM methods in inferring fine structure and evolutionary history of brook charr (*Salvelinus fontinalis*) populations with microsatellites. *Molecular Biology and Evolution*, sous presse.
- Arthur, W. 1982. The evolutionary consequences of interspecific competition. *Advances in Ecological Research* 12 : 127-187.
- Barton, N., et Turelli, M. 1987. Adaptive landscapes, genetic distance and the evolution of quantitative characters. *Genetical Research* 49 : 157-173.
- Behnke, R. J. 1972. The systematics of salmonid fishes of recently glaciated lakes. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 29 : 639-671.
- Bell, M. A., Orti, G. Walker, J. A., et Koenings, J. P. 1993. Evolution of pelvic reduction in Threespine stickleback fish: a test of competing hypotheses. *Evolution* 47 : 906-914.
- Berg, A. 1970. A comparative study of food and growth, and competition between two species of coregonids introduced into Lake Maggiore, Italy. Pages 311-346 *dans* C. C. Lindsey et C. S. Woods, eds. *Biology of coregonid fishes*. University of Manitoba Press, Winnipeg.
- Bernatchez, L. 1994. Techniques de la biologie moléculaire comme outils de gestion des pêches : bilan et perspectives. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 332 : 1-9.
- Bernatchez, L., et Dodson, J. J. 1990. Allapatric origin of sympatric populations of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) revealed by mitochondrial DNA restriction analysis. *Evolution* 44 : 1263-1271.
- Bernatchez, L., et Danzmann, R. G. 1993. Congruence in control-region sequence and restriction-site variation in mitochondrial DNA of Brook Charr (*Salvelinus fontinalis* Mitchell). *Molecular Biology and Evolution* 10 : 1002-1014.

- Bernatchez, L., Vuorinen, J. A., Bodaly, R. A., et Dodson, J. J. 1996. Genetic evidence for reproductive isolation and multiple origins of sympatric trophic ecotypes of whitefish (*Coregonus*). *Evolution* 50 : 624-635.
- Bodaly, R. A. 1979. Morphological and ecological divergence within the lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) species complex in Yukon territory. *Journal of Fisheries Research Board Canada* 36 : 1214-1222.
- Bourke, P., Magnan, P., et Rodriguez, M.A. 1997. Individual variations in habitat use and morphology in brook charr. *Journal of Fish Biology* 50 : sous presse.
- Brown, W. L., Jr., et Wilson, E. O. 1956. Character displacement. *Systematic Zoology* 5 : 49-64.
- Connell, J. H. 1980. Diversity and The coevolution of competitors, or the ghost of competition past. *Oikos* 35 : 131-138.
- Connell, J. H. 1983. On the prevalence and relative importance of interspecific competition: evidence from field experiments. *American Naturalist* 122 : 661-696.
- Crowder, L. B. 1984. Character displacement and habitat shift in a native ciscoe in southeastern Lake Michigan: evidence for competition ? *Copeia* 1984 : 878-883.
- Danzmann, R. G., Furguson, M. M., Skulason, S., Sorrason, S. S., et Noakes, D. L. G. 1991. Mitochondrial DNA diversity among four sympatric morphs of Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, from Thingvallavatn, Iceland, *Journal of Fish Biology* 39 : 649-660.
- De Jong, G. 1995. Phenotypic plasticity as a product of selection in a variable environment. *American Naturalist* 145 : 493-512.
- Ehlinger, T. J. 1989. Learning and individual variation in Bluegill foraging: habitat-specific techniques. *Animal Behavior* 38 : 643-658.
- Ferguson, A., et Taggart, J. B. 1991. Genetic differentiation among sympatric brown trout (*Salmo trutta*) populations of Lough Melvin, Ireland. *Biological Journal of the Linnaean Society* 43 : 221-237.
- Ferguson, M. M., Danzmann, R. G., et Hutchings, J. A. 1991. Incongruent estimates of population differentiation among brook charr, *Salvelinus fontinalis*, from Cape Race, Newfoundland, Canada, based upon allozyme and mitochondrial DNA variation. *Journal of Fish Biology* 39(Suppl. A) : 79-92.

- Fleming, I. A., Jonsson, B., et Gross, M. R. 1994. Phenotypic divergence of sea-ranched, farmed, and wild salmon. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 51 : 2808-2824.
- Foote, C. J., Wood, C. C., et Withler, R. E. 1989. Biochemical genetic comparison of sockeye salmon and Kokanee, the anadromous and nonanadromous forms of *Oncorhynchus nerka*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 46 : 149-158.
- Frandsen, F., Malmquist, H. J., et Snorrason, S. S. 1989. Ecological parasitology of polymorphic Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), in Thingvallavatn. *Journal of Fish Biology* 34 : 281-297.
- Gatz, A. J., Jr. 1979a. Ecological morphology of freshwater stream fishes. *Tulane Studies in Zoology and Botany* 21 : 91-124.
- Gatz, A. J., Jr. 1979b. Community organization in fishes as indicated by morphological features. *Ecology* 60 : 711-718.
- Grant, P. R. 1972. Convergent and divergent character displacement. *Biological Journal of the Linnaean Society* 4 : 39-68.
- Hindar, K. 1994. Alternative life histories and genetic conservation. Pages 323-336 *dans* V. Loeschclee, J. Tomink, et S. K. Jain, eds. *Conservation genetics*. Birkhäuser, Basel, Switzerland.
- Hindar, K., et Jonsson, B. 1982. Habitat and food segregation of the dwarf and normal Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) from Vangsvatnet Lake, western Norway. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 39 : 1030-1045.
- Keast, A., et Webb, D. 1966. Mouth and body form relative to feeding ecology in the fish fauna of small lake, Lake Opinicon, Ontario. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 23 : 1845-1874.
- Lacasse, S., et Magnan, P. 1992. Biotic and abiotic determinants of the diet of brook charr, *Salvelinus fontinalis*, in lakes of the Laurentian Shield. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 49 : 1001-1009.
- Lack, D. 1947. *Darwin's finches*. Cambridge University press, Cambridge.
- Lavin, P. A., et McPhail, J. D. 1985. The evolution of freshwater diversity in the threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*): site-specific differentiation of trophic morphology. *Canadian Journal of Zoology* 63 : 2632-2638.

- Lavin, P. A., et McPhail, J. D. 1986. Adaptive divergence of trophic phenotype among freshwater populations of the threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 43 : 2455-2463.
- Lavin, P. A., et McPhail, J. D. 1987. Morphological divergence and the organization of trophic characters among lacustrine populations of the threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 44 : 1820-1829.
- Liem, K. F. 1990. Aquatic versus terrestrial feeding modes: possible impacts on the trophic ecology of vertebrates. American Zoologist 30 : 209-221.
- Lindsey, C. C. 1981. Stocks are Chameleons: Plasticity in Gill Rakers of Coregonid Fishes. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 38 : 1497-1506
- Lomnicki, A. 1988. Populations Ecology of individual. Monographs in Population Biology, 25, Princeton University Press, Princeton, NJ, 233 pp.
- MacArthur, R. H., et Levins, R. 1967. The limiting similarity, convergence and divergence of coexisting species. American Naturalist 101 : 377-385.
- Magnan, P. 1988. Interactions between brook charr, *Salvelinus fontinalis*, and nonsalmonid species: ecological shift, morphological shift, and their impact on zooplankton communities. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 45 : 999-1009.
- Magnan, P., et Stevens, E. D. 1992. Pyloric caecal morphology of brook charr, *Salvelinus fontinalis*, in relation to diet. Environmental Biology of Fishes 36 : 205-210.
- Malmquist, H. J., Snorrason, S. S., Skúlason, S., Jonsson, B., Sandlund, O. T., et Jonasson, P. M. 1992. Diet differentiation in polymorphic Arctic charr in Thingvallavatn, Iceland. Journal of Animal Ecology 61 : 21-35.
- McCracken, G. L., Parker, C. R., et Guffey, S. Z. 1993. Genetic differentiation and hybridization between stocked hatchery and native brook trout in Great Smoky Mountains National Park. Transactions of the American Fisheries Society 122 : 533-542.
- McPhail, J. D. 1984. Ecology and evolution of sympatric sticklebacks (*Gasterosteus*): morphological and genetic evidence for a species pair in Enos Lake, British Columbia. Canadian Journal of Zoology 62 : 1402-1408.

- McPhail, J. D. 1992. Ecology and evolution of sympatric sticklebacks (*Gasterosteus*): evidence for a species pair in Paxton Lake, Texada Island, British Columbia. Canadian Journal of Zoology 70 : 361-369.
- McPhail, J. D. 1994. Specialisation and the evolution of reproductive isolation in the sticklebacks (*Gasterosteus*) of southwestern British Columbia, *dans* M. A. Bell and S. A. Foster, eds. Evolution of the threespine stickleback. Oxford University Press, Oxford.
- Meyer, A. 1989. Cost of morphological specialization: feeding performance of two morphs in the the trophically polymorphic cichlid fish, *Cichlasoma citrinellum*. Oecologia (Berlin) 80 : 431-436.
- Meyer, A. 1989. Cost of morphological specialization: feeding performance of two morphs in the the trophically polymorphic cichlid fish, *Cichlasoma citrinellum*. Oecologia (Berlin) 80 : 431-436.
- Mittelbach, G. G. 1984. Predation and resource partitioning in two sunfishes (*Centrarchidea*). Ecology 65 : 499-513.
- Newman, R. A. 1992. Adaptive plasticity in Amphibian Metamorphosis. BioScience 42 : 671-678.
- Nordeng, H. 1983. Solution to the "charr" problem based on Arctic char (*Salvelinus alpinus*) in Norway. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 40 : 1372-1387.
- O'Reilly, P., et Wright, J. M. 1995. The evolving technology of DNA fingerprinting and its application to fisheries and aquaculture. Journal of Fish Biology 47(Suppl. A) : 29-55.
- Osenberg, C. W., Mittelbach, G. G., et Wainwright, P. C. 1992. Two-stage life histories in fish: the interaction between juvenile competition and adult diet, performance, and morphology. Ecology 73 : 255-267.
- Osenberg, C. W., Werner, E. E., Mittelbach, G. G., et Hall. D. J. 1988. Growth patterns in bluegill (*Lepomis macrochirus*) and pumpkinseed (*L. gibbosus*) sunfish: environmental variation and the importance of ontogenetic niche shifts. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 45 : 17-26.
- Perkins, D. L., Krueger, C. C., et May, B. 1993. Heritage brook trout in northeastern USA: genetic variability within and among populations. Transactions of the American Fisheries Society 122 : 515-532.

- Pigeon, D., Chouinard, A., et Bernatchez, L. 1997. Multiple modes of speciation involved in the parallel evolution of sympatric dwarf and normal morphotypes of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*, Salmonidae). *Evolution* 51 : sous presse.
- Reist, J. D. 1985. An empirical evaluation of several univariate methods that adjust for size variation in morphometric data. *Canadian Journal of Zoology* 63 : 1429-1439
- Robinson, B. W., et Wilson, D. S., 1994. Character release and displacement in fishes: a neglected literature. *American Naturalist* 144 : 596-627.
- Robinson, B. W., Wilson, D. S., et Shea, G. O. 1996. Trade-offs of ecological specialization: an intraspecific comparison of pumpkinseed sunfish phenotypes. *Ecology* 77(1) : 170-178.
- Robinson, B. W., Wilson, D. S., Margosian, A. S., et Lotito, P. T. 1993. Ecological and morphological differentiation by pumpkinseed sunfish in lakes without bluegill sunfish. *Evolutionary Ecology* 7 : 451-464.
- Rohlf, F. J., et Marcus, L. F. 1993. A revolution in morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution* 4 : 129-132.
- Ryman, N., Allendorf, F. W., et Stahl, G. 1979. Reproductive isolation with little genetic divergence in sympatric populations of brown trout (*Salmo trutta*). *Genetics* 92 : 247-262.
- Sanderson, S. L., Cech, J. J., et Patterson, M. R. 1991. Fluid dynamics in suspension-feeding blackfish. *Science (Washington, D.C.)* 251 : 1346-1348.
- Scheiner, S. M. 1993. Plasticity as a selectable trait: reply to via. *American Naturalist* 142 : 371-373.
- Schlücht, C. D. 1986. The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17 : 667-693.
- Schlücht, C. D., et Pigliucci, M. 1993. Control of plasticity via regulatory genes. *American Naturalist* 142 : 367-371.
- Schlüter, D., et McPhail, J. D. 1992. Ecological character displacement and speciation in sticklebacks. *American Naturalist* 140 : 85-108.
- Schlüter, D., et McPhail, J. D. 1993. Character displacement and replicate adaptive radiation. *Trends in Ecology and Evolution* 8 : 197-200
- Schoener, T. W. 1983. Field experiments on interspecific competition. *American Naturalist* 122 : 240-285.

- Schoener, T. W. 1985. Some comments on Connell's and my reviews of field experiments on interspecific competition. *American Naturalist* 125 : 730-740.
- Skúlason, S., et Smith, T. B. 1995. Resource polymorphisms in vertebrates. *Trends in Ecology and Evolution* 10 : 366-370.
- Skúlason, S., Snorrason, S. S., Noakes, D. L. G., Ferguson, M. M., et Malmquist, H. J. 1989. Segregation in spawning and early life history among polymorphic Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, in Thingvallavatn, Iceland. *Journal of Fish Biology* 35(Suppl. A) : 225-232.
- Skúlason, S., Snorrason, S. S., Ota, D., et Noakes, D. L. G. 1993. Genetically based differences in foraging behaviour among sympatric morphs of Arctic charr (Pisces: Salmonidae). *Animal Behaviour* 45 : 1179-1192.
- Slatkin, M. 1980. Ecological character displacement. *Ecology* 61 : 163-177
- Smith, G. R., et Todd, T. N. 1984. Evolution of species flocks of fishes in north temperate lakes. Pages 45-68 *dans* A, A, Echelle et I. Kornfield, eds. *Evolution of fish species flocks*. University of Maine Press, Orono.
- Stearns, S. C. 1989. The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *BioScience* 39 : 436-445.
- Stoneking, M., Wagner, D. J., et Hildebrand, A. C. 1981. Genetic evidence suggesting subspecific differences between northern and southern populations of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Copeia* 1981 : 810-819.
- Taylor, E. B., et Bentzen, P. 1993a. Evidence for multiple origins and sympatric divergence of trophic ecotypes of smelt (*Osmerus*) in Northeastern North America. *Evolution* 47 : 813-832.
- Taylor, E. B., et Bentzen, P. 1993b. Molecular genetic evidence for reproductive isolation between sympatric populations of smelt (*Osmerus*) in Lake Utopia, south-western New Brunswick, Canada. *Molecular Ecology* 2 : 345-357.
- Taylor, E. B., Foote, C. J., et Wood, C. M. 1996. Molecular genetic evidence for parallel life-history evolution in a Pacific salmon (sockeye salmon and kokanee, *Oncorhynchus nerka*). *Evolution* 50 : 401-416.
- Tessier, N., Bernatchez, L., et Wright, J.M. 1997. Population structure and impact of supportive breeding inferred from mitochondrial and microsatellite DNA analyses in landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Molecular Ecology* 6 : 735-750.

- Tessier, N., Bernatchez, L., Presa, P., et Angers, B. 1995. Gene diversity analysis of mitochondrial DNA, microsatellites and allozymes in landlocked Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology* 47 : 156-163.
- Thompson, J. D. 1991. Phenotypic plasticity as a component of evolutionary change. *Trend in Ecology and Evolution* 6 : 246-249.
- Vadas, R. L. 1990. Competitive exclusion, character convergence, or optimal foraging: which should we expect ? *Oikos* 58 : 123-128.
- Van Tienderen, P. H., et Koelewijn, H. P. 1994. Selection on reaction norms, genetic correlations and constraints. *Genetical Research* 64 : 115-125.
- Van Valen, L. 1965. Morphological variation and the width of the ecological niche. *American Naturalist* 99 : 377-390.
- Venne, H., et Magnan, P. 1995. The impact of intra- and interspecific interactions on young-of-the-year brook charr, in temperate lakes. *Journal of Fish Biology* 46 : 669-686.
- Vespoor, E, et Cole, L. J. 1989. Genetically distinct sympatric populations of resident and anadromous Atlantic salmon, *Salmo salar*, *Canadian Journal of Zoology* 67 : 1453-1461.
- Via, S. 1993. Adaptive phenotypic plasticity: target or by-product of selection in a variable environment ? *American Naturalist* 142 : 352-365.
- Via, S., Gomulkiewicz, R. De Jong, G., Scheiner, S. M., Schlichting, C. D., et Van Tienderen, P. H. 1995. Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy. *Trend in Ecology and Evolution* 10(5) : 212-217.
- Wainwright, P. C., Osenberg, C. W., et Mittelbach, G. G. 1991b. Trophic polymorphism in the pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus* Linnaeus): effects of environment on ontogeny. *Functional Ecology* 5 : 40-55.
- Walter, G. H., Hulley, P. E., et Craig, A. J. 1984. Speciation, adaptation and interspecific competition. *Oikos* 43 : 246-248.
- Webb, P. W. 1984. Body form, locomotion and foraging in aquatic vertebrates. *American zoologist* 24 : 107-120.
- Wimberger, P. H. 1994. Trophic polymorphisms, plasticity, and speciation in vertebrates. *dans Advances in fish foraging theory and ecology.* (Stouder, D. J., et Fresh, K. eds.) Pages 19-43. Belle Brauch Library in Marine Science. No 18. University of South Carolina Press, Columbia.

- Winans, G. A. 1984. Multivariate morphometric variability in Pacific salmon: technical demonstration. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 41 : 1150-1159.
- Wright, J. M., et Bentzen, P. 1994. Microsatellites: genetic markers for the future. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 4 : 384-388.

ANNEXE A

Résumé français des chapitres 1 et 2

CHAPITRE 1

A microsatellite assessment of genetic differentiation between two forms of lacustrine brook trout, *Salvelinus fontinalis*

CHAPITRE 2

Morphological variation between two forms of lacustrine brook trout, *Salvelinus fontinalis*

INTRODUCTION

Le polymorphisme trophique (angl: trophic polymorphism) est beaucoup plus fréquent que l'on croyait chez les vertébrés. Les différences morphologiques entre les individus d'une même population varient grandement selon les taxons et ont tendance à être en corrélation étroite avec la sélection de l'habitat et l'alimentation (Robinson et Wilson 1994, Skúlason et Smith 1995). Le polymorphisme trophique se produit de multiples façons, y compris au niveau des caractères comportementaux et morphologiques (Robinson et Wilson 1994, Skúlason et Smith 1995). Chez les poissons, le polymorphisme prend généralement la forme de paires sympatriques, souvent retrouvées dans les lacs postglaciaires (de 10 000 à 15 000 ans) de l'hémisphère Nord (Schluter et McPhail 1993, Taylor et Bentzen 1993a, Snorrason *et al.* 1994, Chouinard *et al.* 1996). Dans plusieurs lacs d'eau douce, les populations sont composées à la fois d'un type d'eau libre (formes « limnétique » ou « pélagique ») et d'un type d'eau peu profonde (formes « benthique » ou « littorale »; revue dans Robinson et Wilson 1994). Par ailleurs, les paires sympatriques peuvent comporter des morphotypes « normaux » et « nains » (Hindar et Jonsson 1982, Bernatchez et Dodson 1990, Taylor et Bentzen 1993b). En général, ces formes présentent des adaptations locales à divers habitats, par exemple dans leur distribution spatiale et leur alimentation (p. ex. Robinson *et al.* 1993). Des différences génétiques ont aussi été observées entre plusieurs paires sympatriques de poissons (revue dans Hindar 1994, Bernatchez *et al.* 1996, Pigeon *et al.* 1997), bien qu'il semble que les barrières reproductrices commencent seulement à se développer et soient encore incomplètes dans bien des cas. Puisqu'elles représentent un processus de différenciation toujours en cours, ces jeunes formes sympatriques peuvent constituer de bons systèmes pour la compréhension des facteurs impliqués dans les premières étapes d'adaptation locale et d'isolement reproducteur.

Des observations récentes indiquent que l'omble de fontaine, *Salvelinus fontinalis*, manifeste une hétérogénéité intra-lac au niveau de la distribution spatiale et de l'alimentation dans plusieurs lacs du bouclier laurentien. Venne et Magnan (1995) ont observé que les ombles de fontaine juvéniles (0+) du Lac Bondi étaient divisés en deux groupes en fonction de la profondeur. Un premier groupe, appelé « littoral », était retrouvé à une profondeur de 0 à 2 m alors que le second groupe,

appelé « profond » (équivalent des types d'eau libre), était retrouvé à une profondeur de 3 à 6 m. Les deux groupes se distinguaient par leur alimentation de même que par certains traits morphologiques (Venne et Magnan 1995). Quoique non significative, une analyse des fonctions discriminantes, basée sur 21 caractères méristiques et morphométriques, a permis de reclasser correctement 90 % des individus dans leur groupe approprié (Rodriguez, Duchesne et Magnan; données non publiées). Ces résultats suggèrent la présence de différences morphométriques réelles entre les deux groupes, mais une taille de l'échantillon trop petite pour atteindre le seuil de signification statistique (cette analyse était basée sur des mesures morphométriques de seulement 20 spécimens de chaque groupe; Venne et Magnan 1995). Bourke *et al.* (1997) ont aussi observé, à l'aide de la radio-télémétrie, des variations interindividuelles dans l'utilisation de l'espace chez les ombles de fontaine adultes. Les auteurs ont observé deux groupes de spécialistes, un benthique et un pélagique, ainsi qu'un groupe de généralistes dans deux autres lacs du bouclier laurentien (Ledoux et de l'Épervier). Les individus pélagiques étaient dotés de nageoires pectorales plus courtes et avaient une coloration rougeâtre sur les flancs, qui a été attribuée à une alimentation à base de zooplancton, comparativement aux individus littoraux et généralistes.

Ces études indiquent que les ombles de fontaine habitant les lacs oligotrophes du bouclier laurentien affichent un polymorphisme trophique, où certains individus semblent mieux adaptés à une alimentation dans la zone littorale, tandis que d'autres semblent mieux adaptés à une alimentation en zone pélagique (Venne et Magnan 1995, Bourke *et al.* 1997). Ces résultats supposent toutefois un polymorphisme plus subtil que ceux rapportés pour d'autres formes sympatriques (p. ex. Walker *et al.* 1988, Bernatchez et Dodson 1990). Ce type de polymorphisme trophique peut avoir évolué en réponse à la compétition alimentaire entre les individus (Crowder 1984, Magnan 1988, Lacasse et Magnan 1992). Toutefois, il reste à déterminer si une telle compétition suffit à maintenir ce polymorphisme et à produire de façon ultime l'isolement reproducteur. Pour le moment, seules des observations indirectes ont révélé une possibilité d'isolement reproducteur chez l'omble de fontaine. Bourke *et al.* (1997) ont observé que les quelques poissons benthiques et pélagiques, dont l'émetteur fonctionnait toujours à l'automne, ont sélectionné des sites de fraie différents, ce qui indique un potentiel d'isolement reproducteur.

Les résultats de O'connor et Power (1973) soutiennent aussi l'hypothèse de « homing » chez l'omble de fontaine dans un lac comportant deux sites de reproduction.

Dans bien des situations, l'évaluation de la différenciation de loci neutres représente un outil puissant pour vérifier que des formes d'individus appartenant à la même population correspondent à des groupes génétiques différenciés. La diversité des populations d'omble de fontaine a déjà été évaluée à l'aide d'allozymes (p. ex. Ferguson *et al.* 1991), mais le faible nombre d'allèles par locus réduit la capacité de la technique à détecter les niveaux inférieurs de différenciation. Les analyses d'ADN mitochondrial (mt) ont aussi été utilisées pour caractériser génétiquement des populations d'omble de fontaine (p. ex., Danzmann *et al.* 1991). Toutefois, certaines études révèlent que bien que l'ADNmt soit généralement polymorphe, celui observé chez l'omble de fontaine était généralement très bas dans l'ensemble de sa distribution au nord-est de l'Amérique. Il ne semble exister qu'un haplotype dominant dans la plupart des populations (Ferguson *et al.* 1991, Danzmann *et al.*; données non publiées). Plus récemment, l'analyse de l'ADN microsatellite est devenue la méthode la plus fine pour les études de diversité génétique à petite échelle, principalement chez les poissons (O'Reilly et Wright 1995). Dernièrement, Angers *et al.* (1995) et Angers et Bernatchez (sous presse) ont démontré l'utilité des microsatellites dans l'évaluation des différenciations microgéographiques chez les populations d'omble de fontaine qui ont récemment divergé.

Le premier objectif de la présente étude était d'étudier la variation de l'ADN microsatellite des formes littorales et pélagiques d'omble de fontaine afin de vérifier l'hypothèse de la différenciation génétique entre elles dans deux lacs du bouclier laurentien. Le deuxième objectif était de faire ressortir de façon plus précise l'étendue des différences morphologiques pouvant exister entre les deux groupes.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Lacs à l'étude

L'étude a été réalisée dans les lacs Bondi et Ledoux, situés à 1,6 km de distance, dans la réserve Mastigouche, au nord de Trois-Rivières (Québec) Canada (46°40'N, 73°20'W). Ces lacs sont

caractéristiques des lacs oligotrophes tempérés en ce qui a trait à la surface (23,3 et 11,9 ha), la profondeur moyenne (8,0 et 5,5 m), la conductivité (17,1 et 21,2 $\mu\text{S cm}^{-1}$), l'oxygène dissous, la stratification thermique et la transparence (Lacasse et Magnan 1992). Le ventre rouge du Nord, *Phoxinus eos*, est la seule autre espèce de poisson présente dans les lacs.

Échantillonnage des poissons

Les poissons ont été échantillonnés les 25 et 26 juin et entre le 8 et le 21 août 1996 aux lacs Ledoux et Bondi respectivement. L'étude comprend deux classes d'âge d'omble de fontaine, soit des jeunes de l'année pour le Lac Bondi et des adultes (3+ et plus) pour le Lac Ledoux. Les classes d'âge sélectionnées dans la présente étude correspondent à celles étudiées par Venne et Magnan (1995) et par Bourke *et al.* (1997) respectivement. Dans le Lac Bondi, les poissons ont été capturés avec des filets maillants multifilaments (9,9 m de longueur x 1,8 m de hauteur) et monofilaments (7,5 m et 15 m de longueur x 1,8 m de largeur; diamètre des filaments : 0,13 mm), les deux dotés de mailles étirées de 15,9 mm. Dans le Lac Ledoux, les poissons ont été capturés avec des filets maillants multifilaments (32 m de longueur x 2 m de largeur) avec des mailles étirées de 60, 76, 90 et 100 mm (diamètre des filaments de 0,17, 0,20, 0,20 et 0,25 mm respectivement).

Les filets étaient installés pour couvrir les zones littorale (< 2 m) et pélagique (> 3 m pour les jeunes de l'année et > 4 m pour les adultes) des deux plans d'eau. Dans le Lac Bondi, les filets ont été placés le jour à 11 stations réparties autour du lac, alors qu'au Lac Ledoux, ils ont été principalement posés la nuit à quatre stations. Dans les deux lacs, les filets étaient retirés aux deux à trois heures afin de garder les poissons en bonne condition pour les analyses subséquentes. Les poissons ont ensuite été mesurés, pesés, et les nageoires adipeuses ont été sectionnées et préservées dans de l'éthanol à 95 % pour les analyses génétiques.

Analyses génétiques

Analyse microsatellite

L'ADN total a été extrait selon la méthode décrite dans Bernatchez *et al.* (1992). Le polymorphisme microsatellite a fait l'objet d'une analyse au moyen d'une réaction de

polymérisation en chaîne (RPC; angl: PCR) spécifique à cinq loci utilisant des marqueurs développés pour *Salvelinus fontinalis* (Sfo-8, Sfo-12, Sfo-18 et Sfo-23; Angers *et al.* 1995) et *Salmo trutta* (MST-85; Presa et Guyomard 1996). Les conditions de la RPC pour l'amplification des loci étaient semblables à celles décrites par Angers *et al.* (1995). L'électrophorèse sur les gels de poly-acrylamide, la fixation, le séchage et l'autoradiographie étaient conformes aux procédures standards. Les allèles ont été mesurés en comparaison avec la séquence M13 standard et la co-migration d'allèles de dimensions connues sur chacun des gels.

Analyse des données

Le déséquilibre de liaison a d'abord été calculé pour vérifier l'indépendance physique des loci. Les valeurs significatives ont été évaluées selon le test exact de Fisher et la méthode de la chaîne de Markov disponible dans la version 3.0 de GENEPOP (Raymond et Rousset 1995). Le polymorphisme génétique a été mesuré selon le nombre d'allèles par locus (A), l'hétérozygosité observée (H_o) et l'hétérozygosité attendue (Nei 1987), à l'aide de GENEPOP v.3.0. Ces évaluations ont d'abord été calculées globalement pour chaque lac et subséquemment pour chacun des groupes de chaque lac. Dans le but de s'assurer que les loci étaient assez sensibles pour détecter la différenciation des populations, nous avons comparé les ombles de fontaine des deux lacs physiquement isolés. L'hétérogénéité des fréquences d'allèles entre les ombles de fontaine rassemblés à partir des deux lacs a été évaluée par la méthode de la chaîne de Markov afin d'obtenir des évaluations non biaisées au moyen d'itérations (1000 dans la présente étude) (Guo et Thompson 1992).

Le degré de structure génétique des populations a été quantifié à l'aide d'une analyse de variance. Les analyses de diversité génétique ont d'abord été calculées selon les statistiques de $F(\theta)$ de Weir et Cockerham (1984), qui évaluent la corrélation entre les paires d'allèles grâce à une analyse de variance utilisant les fréquences d'allèles uniquement. La subdivision des populations a aussi été évaluée au moyen du modèle de variance moléculaire d'Excoffier *et al.* (1992). Ce processus évalue les éléments de variance standard et les mesures de corrélation des allèles (Φ), et tient aussi compte de la variance de la taille des allèles. Ces méthodes ont été appliquées pour

chaque locus et pour l'ensemble des loci. L'analyse de la variance moléculaire a été réalisée avec la version 1.0 du programme ARLEQUIN (Schneider *et al.* 1997).

Le logiciel GENEPOP version 3.0 a par la suite été utilisé pour évaluer la déviation par rapport aux proportions de Hardy-Weinberg (HW) dans chaque lac. Comme on a observé un déséquilibre de HW dans les deux lacs, ce qui suggérait un accouplement non aléatoire des individus (voir les résultats, chapitre 1), des indices de structure génétique entre les individus (F_{is}) ont été calculés pour chaque locus et pour l'ensemble des loci afin de vérifier spécifiquement si le déséquilibre de HW étaient causés par un excès ou un déficit en hétérozygotes. Lorsque les loci étaient combinés, les estimations de F_{is} étaient positives pour les lacs Bondi et Ledoux, ce qui indiquait que l'union des gamètes n'était pas aléatoire dans ces lacs (voir les résultats, chapitre 1). Par conséquent, des analyses plus détaillées ont été réalisées afin d'évaluer l'étendue de la différenciation génétique entre les groupes de chaque lac. La différenciation génétique basée sur l'hétérogénéité des fréquences d'allèles et les statistiques de F ont été calculées suivant la même procédure. Les valeurs significatives ont été évaluées par le test exact de Fisher dans le cas de cinq allèles ou moins par locus et par la méthode de la chaîne de Markov lorsque le nombre d'allèles étaient supérieur (avec 1000 itérations dans la présente étude) (Guo et Thompson 1992).

Mesures morphométriques

Le coté gauche de chaque poisson a été photographié sur un fond bleu à l'aide d'une camera fixe 35-mm, équipée d'une lentille macro et d'un flash. Les poissons ont tous été photographiés en position naturelle, avec des épingle colorées insérées aux intersections des structures moins visibles. Des mesures morphométriques ont été prises au niveau de structures liées d'une part à la nage (forme corporelle générale), et d'autre part à l'alimentation (structure trophique) des individus de chaque groupe. Les mesures morphométriques liées à la nage ont été prises avec une camera haute performance (camera cohu; modèle 8285) et un logiciel d'analyse d'image (programme Mocha, version 1.2). Les coordonnées « x » et « y » de 13 points de repère ont été calculées sur l'ensemble du corps des spécimens et enregistrées dans une base de donnée informatisée. À partir des points de repères, des mesures conventionnelles (Hubbs et Lagler 1947) et des mesures de type « truss » (Strauss et Bookstein 1982) ont été prises (Figure 1;

chapitre 2). Les mesures liées à l'alimentation ont été prises au niveau de la bouche et des branchiténies de chaque individu. Premièrement, la largeur et la profondeur de la bouche ont été mesurées au centième de millimètre à l'aide d'un vernier digital. Deuxièmement, la plus grande branchiténie située à la courbure du premier arc branchial a été mesurée à l'aide d'un oculaire gradué ($\pm 0,05$ mm).

Analyses statistiques

Comme les études morphométriques sont souvent confrontées aux caractéristiques allométriques des organismes (changement de forme corporelle en fonction de la taille), les données ont été corrigées en fonction de la taille des spécimens (Reist 1985, 1986). Dans cette étude, les données portant sur les caractéristiques de nage ont été corrigées selon la technique de régression basée sur l'analyse des résidus (Fleming *et al.* 1994). Les données ont premièrement été transformées en logarithme naturel puis standardisées à une moyenne de 0 et un écart type de 1. Les mesures morphométriques ont ensuite été transformées pour obtenir la déviation (résidus) des individus par rapport à une droite de régression intra-groupe calculée pour chacun des caractères. Cette approche décrit la relation entre le trait mesuré et la longueur totale de l'individu (Reist 1985). La déviation par rapport à la droite de régression intra-groupe reflète la variation résiduelle pouvant provenir des erreurs de mesure et/ou de la déformation biologique des spécimens (Kuhry et Marcus 1977). Afin de détecter des différences morphologiques entre les individus littoraux et pélagiques, les mesures ajustées ont été comparées à l'aide d'une analyse des fonctions discriminantes. Ce type d'analyse multivariée a permis de déterminer les traits morphométriques qui séparaient le mieux les deux groupes de chacune des populations. Les analyses ont été réalisées avec la version 7.0 de SYSTAT pour Windows.

Les données obtenues à partir des structures trophiques (bouche et branchiténie) ont pour leur part été standardisées à l'aide d'une analyse de covariance (ANCOVA), utilisant la longueur totale des spécimens comme covariable. Cette procédure a permis de comparer les moyennes ajustées des structures mesurées. Pour chaque population, les moyennes ajustées (une par mesure) ont servi à comparer les deux groupes à l'aide d'un test de t. Les analyses ont été effectuées à partir du progiciel SPSS (version 4 sur plateforme RISC 6000/UNIX).

RÉSULTATS

Diversité génétique générale

Le déséquilibre de liaison a d'abord été calculé pour vérifier l'indépendance des loci dans les groupes littoraux et pélagiques de chaque lac (données non publiées). En testant indépendamment chaque paire de loci, nous avons détecté un déséquilibre de liaison significatif entre Sfo-23 et MST-85 ($p < 0,000001$) dans le groupe littoral du Lac Bondi et entre Sfo-8 et Sfo-18 ($p < 0,000001$) dans celui du Lac Ledoux. Les paires mises en cause n'étaient pas les mêmes, ce qui supposait une indépendance physique entre les loci. Tous les microsatellites étaient polymorphiques, le nombre total d'allèles par locus variait de 8 à 20 et l'hétérozygosité globale de chaque locus était échelonnée entre 0,501 et 0,858 (Tableau 1, chapitre 1). La diversité intra-population était aussi généralement élevée, avec une hétérozygosité variant de 0,367 à 0,891, selon le locus et la population (Tableau 2, chapitre 1).

Différenciation génétique inter-lac

La différenciation génétique basée sur les fréquences d'allèles a permis d'observer des différences significatives marquées entre les ombles de fontaine des deux lacs, à tous les loci (Tableau 3, chapitre 1). Les marqueurs microsatellites utilisés dans la présente étude ont révélé un degré très élevé de différenciation entre ces populations isolées. Les statistiques de F ont fourni des valeurs globales (pour les loci combinés) modérées mais hautement significatives, à la fois pour les analyses de variance allélique et moléculaire (Tableau 4, chapitre 1). Pour chacun des loci, les valeurs de θ s'échelonnaient entre 0,0255 (Sfo-8) et 0,1150 (Sfo-18), alors que les valeurs de Φ variaient entre 0,0123 (Sfo-23) et 0,2483 (Sfo-18). Trois des cinq loci indiquaient des évaluations plus élevées avec l'analyse de variance allélique. L'évaluation à partir des loci combinés était toutefois plus élevée avec l'analyse de variance moléculaire.

Différenciation génétique intra-lac

La différenciation génétique entre les groupes littoraux et pélagiques d'un même lac, basée sur les fréquences d'allèles, était significative pour deux des cinq loci dans le Lac Bondi (Tableau 3, chapitre 1). Aucune différenciation significative des fréquences d'allèles n'a été détectée entre

les deux groupes du Lac Ledoux (Tableau 3, chapitre 1). Des déséquilibres de HW attribuables à des déficits en hétérozygotes ont été observés dans les lacs Bondi et Ledoux lorsque tous les poissons ont été mis en commun (Tableau 5, chapitre 1). Les statistiques de F ont aussi révélé des valeurs de F_{is} positives pour chaque locus des deux populations, sauf pour le MST-85 du Lac Ledoux ($F_{is} 0,70, p = 0,985$). Toutefois, seul le MST-85 (Lac Bondi, $F_{is} = 0,187$) et Sfo-12 (Lac Ledoux, $F_{is} = 0,136$) étaient significatifs statistiquement ($p < 0,05$). En partageant la population du Lac Bondi en groupes littoraux et pélagiques, la valeur significative globale de F_{is} (pour les loci combinés) a disparu. Un scénario différent a été observé dans le Lac Ledoux où la valeur positive de F_{is} est demeurée significative dans le groupe littoral, ce qui était principalement attribuable aux loci Sfo-8 et Sfo-12 (Tableau 5, chapitre 1).

Les paramètres de structure génétique, calculés pour les populations subdivisées en groupes, étaient relativement faibles et non significatifs ($p < 0,05$) pour les valeurs de θ et de Φ (Tableau 4, chapitre 1). Les valeurs les plus élevées observées dans le Lac Bondi ont été obtenues par une analyse de variance moléculaire, pour les loci séparés (Sfo-23; $\Phi = 0,0126$) et loci combinés ($\Phi = 0,0094$). Dans le Lac Ledoux, seul deux des cinq loci indiquaient des valeurs au-dessus de zéro (Tableau 4, chapitre 1). Une fois encore, des valeurs plus élevées ont été obtenues à partir de l'analyse basée sur la variance moléculaire pour les loci séparés (Sfo-18, $\Phi = 0,1036$ et Sfo-23, $\Phi = 0,0335$). Toutefois, l'analyse globale des loci combinés avec l'analyse allélique a révélé des valeurs supérieures à celles que l'on avait obtenues avec l'analyse de variance moléculaire.

Différenciation morphologique

L'analyse des fonctions discriminantes a permis de différencier les deux groupes de jeunes de l'année du Lac Bondi ($F = 20,8896, p < 0,0001$; Tableau 1, chapitre 2). Les coefficients canoniques ont révélé que les poissons pélagiques avaient des nageoires dorsales plus courtes et une région du corps postérieure à la nageoire dorsale plus longue que les poissons littoraux (Figure 1, chapitre 2). Le pourcentage de classification des individus dans leur groupe respectif, selon la procédure Jackknife, a été relativement élevé pour les deux groupes : 28 des 35 individus littoraux (80%) et 22 des 29 individus pélagiques (76%). Dans le Lac Ledoux, l'analyse discriminante a également permis de repérer des différences significatives entre les deux groupes

d'adultes ($F = 6,3707, p < 0,0003$; Tableau 1, chapitre 2). Cette fois, l'analyse des coefficients canoniques a révélé que les poissons pélagiques avaient des nageoires pectorales et dorsales plus courtes, ainsi qu'un pédoncule caudal plus court et plus large dans sa partie terminale que les poissons littoraux (Figure 1, chapitre 2). Le pourcentage de classification de la fonction discriminante était légèrement moins élevé dans le Lac Ledoux, et ce, pour les deux groupes : 18 des 28 individus littoraux (67 %) et 24 des 33 individus pélagiques (69 %).

La distribution de fréquence des scores discriminants des deux groupes affichait une bimodalité pour les deux populations (Figure 2 et Figure 3, chapitre 2). Il y a donc peu de chevauchement morphométrique dans les caractéristiques de nage entre les poissons littoraux et pélagiques des lacs Bondi et Ledoux.

L'analyse de covariance des structures trophiques (largeur et profondeur de la bouche, longueur des branchiténies) n'a pas révélé de différences significatives entre les groupes des lacs Bondi et Ledoux (Tableau 3, chapitre 2). La seule variable dont la valeur approchait le seuil de signification a été la longueur de la bouche des poissons adultes du Lac Ledoux ($p = 0,0599$).

DISCUSSION

Diversité microsatellite chez l'omble de fontaine

Le polymorphisme microsatellite observé dans la présente étude correspond à celui obtenu dans les rares études disponibles sur les espèces de poissons nordiques d'eau douce à l'aide des marqueurs microsatellites. Dans une étude de l'omble de fontaine réalisée dans le Parc national de la Mauricie, Angers et Bernatchez (sous presse) ont rapporté un nombre d'allèles par locus variant entre cinq et 18, et une hétérozygosité globale s'étalant de 0,40 à 0,85. Dans une autre étude sur le saumon atlantique, *Salmo salar*, du Lac Saint-Jean, Tessier *et al.* (1997) ont observé entre deux et 17 allèles par locus et une hétérozygosité globale variant de 0,49 à 0,91. McConnel *et al.* (1995) ont aussi recensé entre trois et 16 allèles par locus et une hétérozygosité entre 0,30 et 0,89 pour les populations de saumon atlantique de la Nouvelle-Écosse.

Les lacs Bondi et Ledoux ont été formés à la suite du retrait des glaces qui s'est produit il y a environ 15 000 ans en Amérique du Nord. Les lacs ont été colonisés par l'omble de fontaine provenant de différents refuges glaciaires (Lacasse et Magnan 1994, Angers et Bernatchez sous presse), et sont demeurés isolés les uns des autres depuis ce temps. Les microsatellites utilisés dans la présente étude ont prouvé leur sensibilité en détectant des différences significatives au niveau des fréquences d'allèles entre les ombles de fontaine de chacun des lacs à tous les loci. Les différences génétiques reflètent vraisemblablement les effets de la dérive et des mutations qui ont eu une incidence distincte sur ces populations, dont le flux génique était à toutes fins utiles inexistant. Ce résultat vient appuyer la perception de Angers *et al.* (1995) et de Angers et Bernatchez (sous presse) sur l'utilité des microsatellites pour évaluer la différenciation génétique chez les populations d'ombles de fontaine qui ont récemment divergé.

Différenciation génétique entre les formes

Les mesures génétiques utilisées dans la présente étude ont démontré que les groupes littoraux et pélagiques du Lac Bondi représentent deux populations partiellement isolées qui ne s'accouplent pas de manière aléatoire. La différenciation génétique entre les deux groupes reposait sur des différences des fréquences d'allèles et sur un déséquilibre de HW au moment de la mise en commun des deux groupes, alors qu'aucune déviation du genre n'a été observée au moment de la division des groupes littoraux et pélagiques. L'observation d'une telle déviation par rapport à l'équilibre de HW est l'une des premières étapes pour détecter la présence de structure génétique dans une population (Raymond et Rousset 1995). En vérifiant l'origine d'un tel déséquilibre, les statistiques de F ont révélé une valeur positive de F_{is} significative pour les loci combinés. Ce résultat indique une union des gamètes non aléatoire dans le Lac Bondi, ce qui supporte l'hypothèse que ce lac est formé de deux groupes de poissons (Venne et Magnan 1995).

Des explications alternatives pourraient vraisemblablement résulter en un déficit en hétérozygotes, mais cela semble peu probable dans le contexte actuel. Le déséquilibre de HW pourrait être attribuable à des variations temporelles des fréquences d'allèles. Toutefois, il est difficile d'imaginer un scénario mettant en cause une variation temporelle stochastique puisque l'échantillonnage des jeunes de l'année a été réalisé au cours de la même année pour les deux

groupes, ce qui nous assure que les mêmes cohortes ont été utilisées aux fins de comparaison. Des allèles nuls peuvent aussi créer un déficit en hétérozygotes apparent car ils ne peuvent être détectés qu'à l'état homozygote, et ils ont été régulièrement rapportés comme une explication majeure pour des résultats similaires (p. ex. O'Reilly et Wright 1995, Garcia *et al.* 1997). Les allèles nuls ne peuvent être rejetés de manière empirique, mais ils semblent improbables dans le cas présent. D'abord, le déficit en hétérozygotes observé était causé par différents loci dans les deux lacs, ce qui supposerait des allèles nuls détectables pour certains loci et l'absence différentielle de ces allèles selon les groupes. Ensuite, aucun allèle nul n'a été observé par Angers *et al.* (1995), et Angers et Bernatchez (sous presse), où les mêmes loci ont été étudiés dans 26 populations d'omble de fontaine rapprochées géographiquement. Des déséquilibres stochastiques de HW sont aussi attendus chez les petites populations. Toutefois, nos résultats indiquent que la valeur positive significative de F_{is} a disparu lorsque l'équilibre de HW a été calculé en considérant les deux groupes séparément. Si la dimension de la population était responsable du déficit en hétérozygotes, la probabilité d'obtenir des valeurs de F_{is} significatives seraient plus élevées si les tests étaient appliqués à des groupes divisés, puisque les populations sont plus petites. Par ailleurs, on s'attendrait à ce qu'un déséquilibre stochastique donne un excès ou un déficit en hétérozygotes égal, ce qui n'était évidemment pas le cas ici. Par conséquent, sans nier le fait que ces facteurs puissent en partie expliquer le déficit en hétérozygotes observé dans le Lac Bondi, il semble plus plausible que ce soit le reflet du mélange de deux formes génétiquement distinctes, l'une littorale et l'autre pélagique, dans ce lac.

Contrairement au Lac Bondi, aucune évidence de différenciation génétique n'a été observée dans le Lac Ledoux. D'abord, aucune différence significative des fréquences d'allèles n'a été détectée entre les deux groupes. Ensuite, lors des tests d'équilibre de HW pour les groupes littoraux et pélagiques séparés, la valeur de F_{is} est demeurée significative dans le groupe littoral. Ces résultats indiquent que l'hétérogénéité intra-lac révélée par le déficit global en hétérozygotes ne correspond pas à la classification basée sur la distribution spatiale des individus (littoral et pélagique). Par conséquent, cette étude ne permet pas de conclure que les poissons des deux zones représentent deux populations différenciées génétiquement. Ces résultats ne concordent pas avec ceux de Bourke *et al.* (1997), qui ont rapporté différents groupes d'adultes d'omble de

fontaine dans le Lac Ledoux d'après la variation dans l'utilisation de l'habitat et la morphologie. Comme notre classification était basée sur la zone de capture (littorale par rapport à pélagique), l'évaluation positive du F_{is} global détecté dans le groupe littoral peut s'expliquer par la présence d'individus pélagiques dans cette zone. Bourke *et al.* (1997) ont observé que les individus littoraux étaient localisés dans la zone littorale dans 82 % des localisations et les individus pélagiques dans la zone pélagique dans 69 % des localisations, ce qui indique certains mouvements des poissons des deux groupes entre les zones (les individus de la zone pélagique étant moins fidèles à leur zone que les individus littoraux). Ce genre de mélange des individus a pu réduire les possibilités de détecter de différences fines dans la fréquence des allèles. Des études additionnelles seront nécessaires pour confirmer la présence de deux formes génétiquement différenciées d'omble de fontaine dans le Lac Ledoux, soit en basant la classification sur des individus 0+, qui sont présumés moins mobiles, ou sur un plus grand nombre d'adultes, pour accroître la puissance des analyses discriminantes.

Divergence évolutive de l'omble de fontaine du Lac Bondi

Bien qu'il y ait évidence de différenciation génétique entre les formes du Lac Bondi, les paramètres de structure génétique (θ et Φ) ont révélé que le degré de divergence est plus subtile que celui qui a été observé pour d'autres paires sympatriques de poissons nordiques d'eau douce (Schluter et McPhail 1993, Taylor et Bentzen 1993a,b, Snorrason *et al.* 1994, Chouinard *et al.* 1996, Bernatchez *et al.* 1996, Pigeon *et al.* 1997). Une faible structure génétique de population peut laisser supposer que l'isolement reproducteur est incomplet et que le flux génique se produit encore entre les deux formes.

Bernatchez *et al.* (1996) ont émis l'hypothèse que les morphotypes sympatriques présents dans les lacs offrant une meilleure possibilité de séparation de niche trophique devraient avoir des traits plus spécifiques pour l'occupation de ces niches et les pressions sélectives devraient favoriser le renforcement des mécanismes d'isolement pour maintenir ces différences. De la même manière, l'isolement reproducteur partiel détecté dans le Lac Bondi pourrait être une conséquence des pressions sélectives directionnelles imposées par la nécessité de maintenir la spécialisation trophique entre les deux formes, comme on l'a récemment proposé pour expliquer la corrélation

entre la divergence morphologique et génétique des écotypes sympatriques du Grand corégone, *Coregonus cupeaformis* (Bernatchez *et al.* 1996, Chouinard *et al.* 1996, Pigeon *et al.* 1997). Les données écologiques et génétiques suggèrent que les ombles de fontaine du Lac Bondi ont développé des adaptations associées au partage de l'habitat (littoral et pélagique), et que les pressions directionnelles auraient pu suffire à maintenir la spécialisation trophique et produire une différence génétique entre eux. Ce genre de spécialisation trophique basée sur la séparation de l'habitat semble apparaître très tôt dans le développement de l'omble de fontaine (McLaughlin et Grant 1994, Venne et Magnan 1995).

Lorsqu'on considère toutes les formes sympatriques des poissons nordiques d'eau douce qui ont été caractérisées génétiquement, il semble y avoir un continuum (phénomène progressif) par rapport au degré de différenciation génétique parmi les populations (discuté dans Hindar 1994 et Chouinard *et al.* 1996). Avec un élément interpopulation de variance génétique de moins de 1 %, les formes d'ombles de fontaine du Lac Bondi semblent représenter le début de ce continuum. Le processus de divergence peut être lié au niveau de stabilité écologique, à la disposition des niches et, peut-être dans certains cas, à l'âge du système lacustre (Skúlason *et al.* 1993). Selon cette hypothèse, les deux formes observées dans le Lac Bondi peuvent représenter une étape précoce de la spécialisation trophique, où la forme pélagique a pu évoluer en l'absence de compétition interspécifique, et a été favorisée à la fois par la compétition intraspécifique et par une niche trophique planctonique inutilisée (Robinson et Wilson 1994, Skúlason et Smith 1995). Dans une étude récente de l'abandon et du déplacement de caractères chez les poissons, Robinson et Wilson (1994) ont illustré que la spécialisation trophique est courante dans les lacs pauvres en espèces, et que la plupart comprennent des formes benthiques et pélagiques. Bien que les résultats rapportés ici soient limités à un seul cas, ils supposent que l'omble de fontaine habitant les lacs oligotrophes peut manifester un polymorphisme trophique associé à des groupes différenciés génétiquement qui ne s'accouplent pas au hasard.

Polymorphisme morphologique

L'analyse des caractères morphologiques vient confirmer l'existence de formes littorales et pélagiques dans le Lac Bondi et le Lac Ledoux. Les jeunes de l'année du Lac Bondi différaient significativement pour deux variables (les poissons pélagiques avaient des nageoires dorsales plus courtes et une région du corps postérieure à la nageoire dorsale plus longue que les poissons littoraux) tandis que quatre variables permettaient de séparer les adultes du Lac Ledoux (les poissons pélagiques avaient des nageoires pectorales et dorsales plus courtes, ainsi qu'un pédoncule caudal plus court et plus large dans sa partie terminale que les poissons littoraux). L'analyse discriminante des caractères morphométriques a permis de reclasser efficacement les individus dans leur groupe approprié, avec un taux de réussite de 78 % pour les jeunes de l'année du Lac Bondi et 69 % pour les adultes du Lac Ledoux.

Le fait que les différences morphologiques entre les individus littoraux et pélagiques puissent représenter des adaptations face aux ressources trophiques implique que les deux formes possèdent de meilleures habiletés alimentaires, et donc un meilleur « fitness », dans leur niche respective. Dans le Lac Bondi, l'efficacité de la forme pélagique pour s'alimenter de proies dispersées dans la colonne d'eau peut être augmentée par leur pédoncule fusiforme et une nageoire dorsale réduite. Ces caractères peuvent en effet diminuer la résistance et augmenter la vitesse de croisière des individus (Gatz 1979, Webb 1984). Les poissons pélagiques du Lac Ledoux présentaient également une nageoire dorsale réduite, ce qui suppose une relation fonctionnelle entre la taille de cette nageoire et les caractéristiques de nage de chacune des formes. De plus, la section terminale du pédoncule des individus pélagiques du Lac Ledoux était plus large. Webb (1984) a démontré que la largeur de cette section du pédoncule est proportionnelle à la vitesse de propulsion des individus, tout en facilitant les longs déplacements. Les résultats ont également démontré que les nageoires pectorales des poissons littoraux étaient plus longues que celles des individus pélagiques dans le Lac Ledoux. De longues nageoires pectorales facilitent les manœuvres précises et lentes (Gatz 1979, Webb 1982, 1984), nécessaires pour exploiter les habitats structurellement plus complexes et s'alimenter efficacement d'organismes benthiques. Une relation similaire entre la longueur de la nageoire pectorale et le comportement alimentaire a été observé chez d'autres espèces de poissons d'eau douce,

notamment chez le crapet soleil, *Lepomis gibbosus* (Ehlinger 1990) et l'omble chevalier, *Salvelinus alpinus* (Malmquist *et al.* 1992). Ces résultats supposent une forte relation fonctionnelle entre la morphologie de la nageoire pectorale et le mode d'alimentation chez les poissons.

Les différences morphologiques observées dans cette étude suggère que les individus littoraux et pélagiques semblent posséder des traits permettant d'exploiter efficacement les habitats qu'offrent ces lacs, avec des individus littoraux mieux adaptés pour un environnement complexe et des individus pélagiques mieux adaptés pour un environnement d'eau libre.