

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

TRANSMISSION MULTIGÉNÉRATIONNELLE DE TRAITS MORPHOLOGIQUES
ET COMPORTEMENTAUX CHEZ DEUX FORMES D'OMBLE DE FONTAINE
(*SALVELINUS FONTINALIS*)

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

PAR
ALEXANDRE EAST

AVRIL 2021

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.

Remerciements

J'aimerais d'abord remercier mon directeur de recherche, le professeur Pierre Magnan, pour son excellent mentorat et son support tout au long de mon parcours à l'UQTR, où j'ai eu le privilège de faire partie de l'équipe de la Chaire de recherche du Canada en écologie des eaux douces. Je tiens à remercier particulièrement Marc Pépino pour son aide inestimable et ses conseils judicieux dans la réalisation de mon projet de recherche. Merci également à tous les membres du laboratoire, Vincent Rainville, Matteo Giacomazzo, Antoine Filion, Benjamin Gosselin, Riwan Leroux et Vickie Lapointe pour leur aide et pour avoir fait de mon parcours une expérience unique. Je veux aussi remercier mes parents qui m'ont toujours supporté et partagé leur passion. Ça aura été un honneur pour moi d'avoir eu le même directeur de recherche qu'eux à la maîtrise. Un merci spécial à Vickie Lapointe de m'avoir accompagné moralement durant ma maîtrise et pour son aide inestimable lors de mes expériences en laboratoire. Je voudrais remercier les professeurs Bernard Angers, de l'Université de Montréal, et Dany Garant, de l'Université de Sherbrooke pour leurs commentaires constructifs lors de l'évaluation de mon mémoire. Enfin, je suis reconnaissant envers mon directeur de recherche pour le support financier qu'il m'a accordé au cours de ma maîtrise, à partir des fonds de la Chaire de recherche du Canada en écologie des eaux douces.

Avant-propos

Ce mémoire a été réalisé dans le cadre du programme de maîtrise en sciences de l'environnement (3404) de l'Université du Québec à Trois-Rivières (UQTR), sous la supervision du professeur Pierre Magnan. L'objectif du projet de recherche a été de déterminer si certains traits morphologiques et comportementaux de deux formes d'omble de fontaine sont transmis des parents (F0), provenant de l'environnement naturel, jusqu'à la génération (F2), élevée en laboratoire. Le mémoire comprend trois chapitres. Le premier inclut le cadre conceptuel, la problématique ainsi que les objectifs généraux et spécifiques du projet. Le second, rédigé en anglais sous forme d'article scientifique, présente les résultats de mon projet de recherche et s'intitule « Multi-generational transmission of behavioral and morphological traits in littoral and pelagic brook charr (*Salvelinus fontinalis*): evidence of transgenerational epigenetic inheritance ». Le manuscrit sera soumis au périodique *Behavioral Ecology*. Le troisième chapitre présente une synthèse des principaux résultats et les conclusions du travail de recherche ainsi que les prochaines étapes qui pourraient être faites pour avancer les connaissances dans ce domaine d'étude.

Résumé

La connaissance des mécanismes impliqués dans la transmission des traits d'une génération à l'autre est importante afin de bien comprendre l'évolution des populations animales. L'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) présente un polymorphisme subtil associé aux ressources comprenant une forme littorale, qui s'alimente principalement d'organismes benthiques, et une forme pélagique, qui s'alimente principalement de zooplancton. Il a été montré dans des expériences en laboratoire que certains traits morphologiques et comportementaux sont transmis des parents à la première génération chez les deux formes, ce qui a été interprété comme étant le résultat d'une héritabilité génétique « pure ». Cependant, l'avancement des connaissances a mis en lumière que la transmission de traits des parents à leur progéniture pourrait être causée par un mécanisme de transmission épigénétique transgénérationnelle (i.e. modifications épigénétiques durant la maturation des gamètes en réponse à l'environnement connu par les parents, qui influencera la réponse phénotypique de sa progéniture). L'objectif de cette étude a été de déterminer si les traits morphologiques et certains comportements d'alimentation des deux formes d'omble de fontaine sont transmissibles des parents (F0), provenant du milieu naturel, aux deux générations suivantes (F1 et F2), élevées en laboratoire. Des expériences d'alimentation effectuées avec des proies benthiques (vers de sang) et pélagiques (*Daphnia* sp.) ont révélé que les individus littoraux de première génération (F1) ont consommé significativement plus de proies benthiques que les individus pélagiques alors que les deux écotypes n'ont montré aucune différence significative dans le nombre de proies planctoniques consommées. Les individus F1 des deux écotypes ont affiché une plus grande préférence pour les proies benthiques lors de la première capture d'une proie (i.e. lorsqu'ils faisaient un choix complètement naïf entre les deux types de proies) mais cette préférence était significativement plus élevée chez les individus littoraux que pélagiques. Les individus de deuxième génération (F2) n'ont montré aucune différence significative dans la préférence et les quantités de proies benthiques et planctoniques consommées. Les traits utilisés pour identifier les écotypes en milieu naturel (F0) ont montré un faible taux de transmission chez les individus F1 et F2. Des analyses de forme n'ont montré aucune différence entre les écotypes littoraux et pélagiques des trois générations. Nos résultats suggèrent que le comportement d'alimentation de la progéniture F1 de la forme littorale est le résultat d'une transmission épigénétique transgénérationnelle, le signal original s'étant perdu à la seconde génération. Nos résultats supportent également l'hypothèse que la diversification comportementale précède la diversification morphologique chez les poissons.

Mots clés : Transmission de traits, polymorphisme associé aux ressources, plasticité phénotypique, épigénétique, comportement d'alimentation, omble de fontaine

Table des matières

Remerciements.....	ii
Avant-propos	iii
Résumé	iv
Liste des figures	vii
Définitions	1
Chapitre I	2
Introduction	2
1.1 Polymorphisme associé aux ressources.....	2
1.2 Polymorphisme associé aux ressources chez les poissons	3
1.3 Polymorphisme associé aux ressources chez l'omble de fontaine	6
1.4 Mécanismes responsables de l'expression des traits chez les vertébrés.....	9
1.4.1 Transmission héréditaire	10
1.4.2 Plasticité phénotypique	10
1.4.3 Épigénétique.....	12
1.5 Problématique.....	15
1.6 Objectifs et prédictions	16
Chapitre II.....	18
Multi-generational transmission of behavioral and morphological traits in littoral and pelagic brook charr (<i>Salvelinus fontinalis</i>): evidence of transgenerational epigenetic inheritance.....	18
Abstract.	19
Introduction	20
Material and methods	23
Experimental fish and rearing conditions	23
Foraging experiments.....	25
Morphological measurements	26
Statistical analyses	27
Results.....	30
Foraging behavior	30
Morphology	31
Discussion	33
Inheritance of foraging behavior.....	33

Inheritance of morphological traits	36
Conclusion	37
Acknowledgments.....	39
References	39
Figure captions	46
Tables.....	48
Supplementary material	55
Chapitre III	58
Conclusion générale.....	58
3.1 Contextualisation	58
3.2. Principaux résultats.....	58
3.3 Conclusions et perspectives futures	61
Références bibliographiques.....	64

Liste des figures

Figure 1: Étapes et mécanismes possibles menant à un polymorphisme associé aux ressources et éventuellement à une spéciation (tirée de Skúlason et Smith, 1996).....	3
--	---

Définitions

- Épigénétique : Ensemble des phénomènes et mécanismes impliqués dans le changement de l'activité des gènes, n'impliquant pas de modification de la séquence d'ADN et pouvant être transmis lors des divisions cellulaires (mitose et méiose)
- F : Code utilisé pour définir une génération. Dans la présente étude, F0 représente les géniteurs provenant du milieu naturel et F1 et F2, la première et la seconde générations élevées en laboratoire, respectivement.
- Transmission : Fait référence à la transmission d'un ou plusieurs traits des parents à la progéniture.

Chapitre I

Introduction

1.1 Polymorphisme associé aux ressources

Chez les vertébrés, les individus d'une même espèce peuvent présenter un polymorphisme associé aux ressources, soit la présence de deux ou plusieurs formes à l'intérieur d'une même population (Skúlason and Smith 1995; Robinson and Wilson 1994). Il est parfois possible de faire la différence entre les formes (ou écotypes) en se basant sur la morphologie, la coloration, les traits d'histoire de vie et le comportement (Smith and Skúlason 1996). Ces formes présentent souvent des adaptations morphologiques ou comportementales liées à l'acquisition de ressources différentes, dans des habitats distincts (Skúlason and Smith 1995; Jonsson and Jonsson 2001; Adams and Huntingford 2002; McKinnon and Rundle 2002; Robinson and Parsons 2002). Ces différences permettraient aux individus d'obtenir des avantages adaptatifs dans leurs habitats respectifs. La sélection divergente associée à l'utilisation différentielle des ressources est considérée comme une force évolutive qui peut mener à de la spéciation, s'il y a éventuellement un isolement reproducteur (Figure 1; Skúlason and Smith 1996).

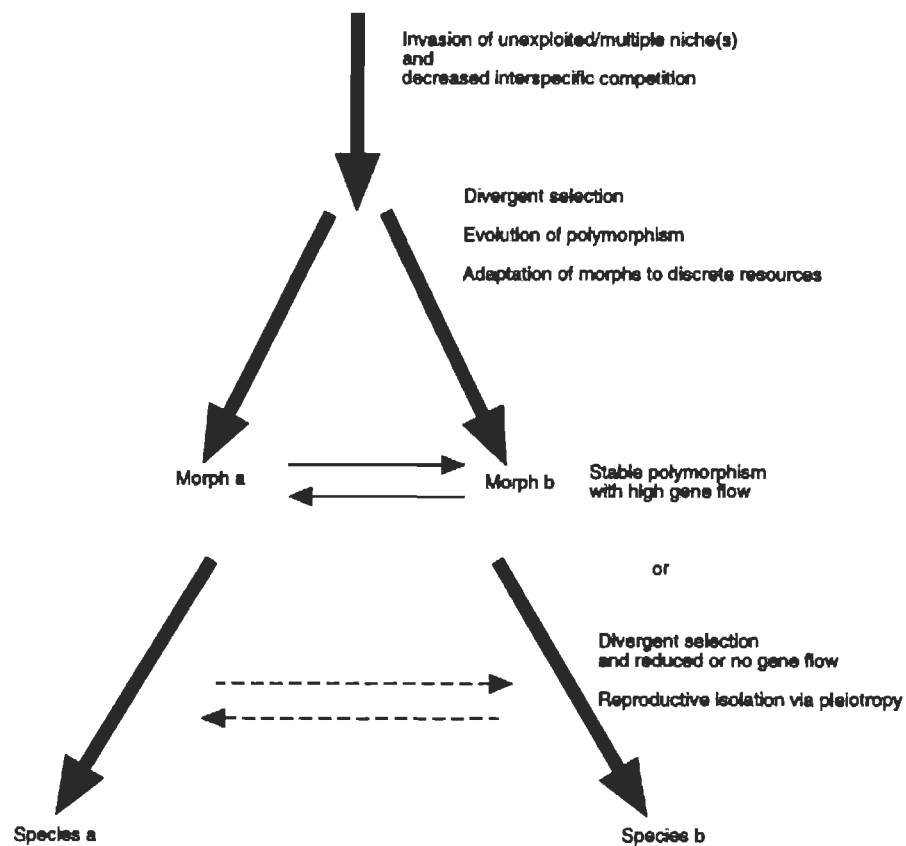


Figure 1 Generalized schematic showing possible steps and mechanisms leading to resource polymorphisms and speciation.

Figure 1: Étapes et mécanismes possibles menant à un polymorphisme associé aux ressources et éventuellement à une spéciation (tirée de Skúlason et Smith, 1996).

1.2 Polymorphisme associé aux ressources chez les poissons

Le polymorphisme associé aux ressources est commun chez les poissons (Skúlason and Smith 1995; Smith and Skúlason 1996). Les lacs de l'hémisphère nord présentent généralement deux types d'habitats distincts, soit la zone littorale et la zone pélagique et dans plusieurs études portant sur le polymorphisme associé aux ressources, différentes formes de la même espèce sont associées à ces deux zones (Smith and Skúlason 1996). Par exemple, des formes littorales et pélagiques ont été observées chez l'omble chevalier

(*Salvelinus alpinus*) (Gudkov 1994; Griffiths 1994; Hindar and Jonsson 1982), la truite brune (*Salmo trutta*) (Ferguson and Taggart 1991; McVeigh et al. 1995), le saumon sockeye (*Oncorhynchus nerka*) (Foote et al. 1989; Wood and Foote 1990), le grand corégone (*Coregonus clupeaformis*) (Bodaly et al. 1988; Echelle and Kornfield 1984), l'éperlan arc-en-ciel (*Osmerus mordax*) (Taylor and Bentzen 1993), l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*) (Cresko and Baker 1995; McPhail 1994), le crapet soleil (*Lepomis gibbosus*) (Ehlinger and Wilson 1988; Robinson and Wilson 1994) et le crapet arlequin (*Lepomis macrochirus*) (Robinson et al. 1993; Wimberger 1994).

Il y a principalement deux types de polymorphisme associé aux ressources chez les poissons : un polymorphisme « contrastant » où les différences entre les formes sont clairement visibles et un polymorphisme « subtil » où les différences morphologiques peuvent seulement être détectées par des mesures précises et des analyses statistiques multivariées (Skúlason and Smith 1995; Robinson and Wilson 1996). Le cas de l'omble chevalier de lacs scandinaves (Hindar and Jonsson 1982; Malmquist 1992) est un exemple de polymorphisme contrastant. Par exemple, le lac Vangsvatnet en Norvège présente plusieurs formes d'omble chevalier (Hindar and Jonsson 1982). La population du lac est composée d'un phénotype pâle présentant des marques de tacon sur les flancs ainsi qu'une faible coloration de fraie (ombles nains) et un autre, présentant des flancs argentés en condition normale et une coloration rouge vif en période de fraie (ombles normaux) (Hindar and Jonsson 1982). La distribution des individus et des ressources alimentaires de chacune des formes ont montré qu'il y a une ségrégation marquée au niveau de l'habitat et des ressources alimentaires durant l'été, la forme naine occupant la zone profonde benthique et la forme normale, la zone littorale (Hindar and Jonsson 1982). Il y a disparition

de cette ségrégation en période d'abondance des ressources, ce qui suggère que le choix de l'habitat serait causé par une compétition intraspécifique pour les ressources alimentaires (Hindar and Jonsson 1982). Les auteurs ont comparé les formes d'ombles du lac Vangsvatnet avec ceux du lac Lgnavatnet, un lac voisin moins profond qui présente une seule forme d'omble mature, soit la forme normale. Les auteurs ont conclu que les formes d'omble chevalier sont adaptées aux conditions environnementales locales telles que la morphologie du lac, la disponibilité de nourriture ainsi que la composition de la communauté de poissons (Hindar and Jonsson 1982). Le nombre de formes dans un endroit donné serait donc associé au nombre de niches écologiques disponibles durant la saison de croissance (Hindar and Jonsson 1982).

Le cas du crapet soleil (*Lepomis gibbosus*) du lac Paradox dans l'état de New York est un exemple de polymorphisme subtil (Robinson and Wilson 1996). Cette étude a montré les compromis fonctionnels pour deux variables de la valeur sélective (angl. : fitness), le facteur de condition et le taux de croissance chez une population de crapet soleil. Les poissons des habitats littoral et pélagique diffèrent par leur alimentation, la forme générale du corps et la morphologie de structures trophiques telle que les branchicténies et la mâchoire pharyngienne (Robinson et al. 1993). Il est intéressant de noter que cette population n'est pas constituée de deux formes distinctes, mais bien d'une distribution morphologique unimodale dans laquelle la plupart des poissons ont une forme intermédiaire (Robinson and Wilson 1996). Les auteurs ont trouvé que les poissons qui affichent des extrêmes de morphologie pélagique (corps plus fusiformes) ont en moyenne une croissance et un facteur de condition supérieurs aux poissons qui affichent des caractères morphologiques intermédiaires, particulièrement ceux capturés dans la zone

pélagique (Robinson and Wilson 1996). Cet exemple montre bien que même subtiles, les différences morphologiques permettent de supposer un avantage adaptatif au niveau intraspécifique.

1.3 Polymorphisme associé aux ressources chez l'omble de fontaine

L'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) retrouvé dans les lacs du Bouclier canadien présente un polymorphisme subtil associé aux ressources; une forme littorale s'alimente de proies benthiques dans la zone littorale et une forme pélagique s'alimente de zooplancton dans la colonne d'eau (Venne and Magnan 1995; Bourke et al. 1997, 1999; Dynes et al. 1999; Rainville et al. 2021a, b). Les différences individuelles dans l'utilisation de l'habitat ont été reliées à des différences morphologiques : les individus pélagiques sont plus fusiformes et affichent des nageoires pectorales plus courtes que les individus littoraux, qui sont plus trapus et présentent des nageoires pectorales plus longues (Bourke et al. 1999; Dynes et al. 1999; Marchand et al. 2003; Proulx et Magnan 2002, 2004). Une forme fusiforme réduirait le coût énergétique de la nage (réduction de la friction) en eau libre (Gatz 1979; Webb 1984) et devrait ainsi améliorer les performances de recherche et d'acquisition des ressources alimentaires dispersées et mobiles, tels que le zooplancton. Par ailleurs, un corps plus trapu améliorerait les mouvements soudains et rapides (angl. : burst swimming), qui seraient avantageux lors de la capture de proies benthiques retrouvées dans l'habitat littoral, telles que les larves d'insectes, plus grandes et plus rapides (Webb 1984; Norton 1991; Malmquist et al. 1992; Walker 1997). Les nageoires pectorales plus longues des individus spécialisés sur les proies benthiques seraient quant à elles mieux adaptées aux manœuvres complexes dans l'habitat littoral, alors que les nageoires pectorales plus courtes des individus spécialisés sur le zooplancton permettraient de réduire

la résistance de l'eau durant la nage dans la zone pélagique (Gatz 1979; Webb 1984; Winemiller 1991).

La différenciation morphologique liée au polymorphisme associé aux ressources serait reliée fonctionnellement avec la performance de nage et l'énergétique des deux écotypes. Dans des expériences de nage à différentes vitesses de courant, Peres-Neto et Magnan (2004) ont trouvé que des changements morphologiques ont été induits chez les deux formes en réponse à des demandes énergétiques différentes (Peres-Neto and Magnan 2004). La longueur de la nageoire pectorale, qui diminuait en fonction d'une augmentation de la vitesse du courant, était le trait qui répondait le plus fortement aux prédictions attendues sous une sélection divergente liée à l'habitat. Dans des expériences de nage forcée en respiromètres, Rouleau et al. (2010) ont observé que la vitesse de nage critique (*Ucrit*) des individus pélagiques provenant du milieu naturel était supérieure à celle d'individus littoraux. De plus, les individus littoraux et pélagiques élevés en laboratoire ont montré des *Ucrit* supérieures à leurs hybrides. Les valeurs de *Ucrit* supérieures étaient associées à des nageoires pectorales, anales, caudales et dorsales courtes (poissons sauvages) ainsi qu'à une largeur de corps (poissons sauvages et ceux élevés en laboratoire) et hauteur de corps (poissons élevés en laboratoire) plus élevées. Lorsque forcés à se nourrir dans des enclos situés en zone pélagique, des ombles de fontaine littoraux ont dépensé plus d'énergie (Marchand et al. 2003) et présentaient une performance physiologique moins grande (Proulx and Magnan 2002) que les individus pélagiques, suggérant que la diversification associée aux ressources est adaptative chez cette espèce.

Dans des expériences réciproques (angl. : reciprocal transplant experiments) sur les formes littorale et pélagique d'omble de fontaine, Proulx et Magnan (2004) ont montré que

certaines traits restent stables chez les individus forcés à se nourrir dans leur environnement réciproque tandis que d'autres traits ont montré des changements dans les directions prédites de la morphologie fonctionnelle. Ces résultats ont mené Proulx et Magnan (2004) à conclure que les différences entre les écotypes seraient déterminées à la fois par des facteurs génétiques et environnementaux. Dans une expérience réciproque effectuée dans des enclos en milieu naturel, Pélino et al. (2018) ont observé que la longueur des nageoires pectorales (principal trait discriminant les écotypes littoral et pélagique) était moins plastique que la forme du corps. La croissance était plus élevée dans l'habitat pélagique que dans l'habitat littoral, mais les individus d'origine littorale et pélagique n'ont pas eu une croissance supérieure dans leur habitat respectif (comparaison entre les écotypes). La forme du corps de la plupart des individus soumis à leur environnement réciproque a affiché des changements vers la forme attendue de cet environnement. Cette réponse plastique de la forme du corps était fonctionnellement corrélée avec la croissance à l'intérieur des écotypes, mais seulement dans l'habitat littoral, possiblement due à la baisse de zooplancton dans les enclos pélagiques durant les expériences. De plus, la variance intra-écotype des traits morphologiques ainsi que la croissance étaient plus élevées dans l'habitat littoral que l'habitat pélagique.

Il a été montré que la morphologie de juvéniles de l'année (0+) littoraux et pélagiques élevés en laboratoire est héritable de parents provenant du milieu naturel (Proulx and Magnan 2002, 2004, Sacotte and Magnan 2006). Par exemple, les individus 0+ issus de la reproduction d'individus littoraux sauvages ont affiché des nageoires pectorales et une base de la nageoire dorsale plus longues que les individus 0+ pélagiques issus d'individus sauvages pélagiques (Sacotte and Magnan 2006). Les deux écotypes ont conservé les traits

morphologiques des parents sur une génération (F0 à F1), et ce, même si les juvéniles de l'année des deux écotypes ont été élevés dans des conditions de laboratoire identiques. Sacotte et Magnan (2006) ont également montré que certains traits du comportement alimentaire de juvéniles de l'année (0+) étaient transmissibles des parents à la première génération. Les juvéniles de chacune des formes ont été nourries avec de la moulée pour salmonidé pendant les quatre premiers mois de leur alimentation exogène puis soumis à des expériences d'alimentation sur des proies benthiques (vers de sang) et du zooplancton vivant (*Daphnia* sp.). Les jeunes de l'année de la forme littorale, qui n'avaient jamais été en contact avec des proies naturelles, ont été plus efficaces que les individus pélagiques à s'alimenter sur les proies benthiques (taux de capture plus élevés et de rejet moins élevé). Une tendance réciproque a été observée entre les individus littoraux et pélagiques en présence de zooplancton, mais celle-ci n'a pas été significative. Les résultats sur la transmission de traits morphologiques et comportementaux des parents aux individus de première génération suggèrent qu'il y a une composante génétique dans l'expression de ce polymorphisme.

1.4 Mécanismes responsables de l'expression des traits chez les vertébrés

Plusieurs mécanismes peuvent mener à la diversification des individus à l'intérieur de la même espèce. Les traits morphologiques, comportementaux et physiologiques peuvent être uniquement le résultat de l'expression des gènes reçus des parents, soit la transmission héréditaire. L'expression des traits peut également être causée par de la plasticité phénotypique, soit la capacité d'un génotype à produire différents phénotypes en réponse à différentes conditions environnementales (Schneider and Meyer 2016). Plus

récemment, les effets épigénétiques ont été identifiés comme étant des mécanismes non négligeables pouvant affecter l'expression des traits (Berger et al. 2009; Angers et al. 2010; Bossdorf and Zhang 2011; Dachin et al. 2011; Best et al. 2018). Il est important de bien définir ces mécanismes afin d'avoir une bonne compréhension de l'expression des traits.

1.4.1 Transmission héréditaire

Plusieurs traits sont transmis par des mécanismes dits mendéliens, soit de façon héréditaire des parents à la progéniture. Le phénotype d'un individu est déterminé par les facteurs génétiques, les facteurs environnementaux et l'interaction des deux (Stearns 1989 ; Whitman and Agrawal 2009). L'héritabilité est la part de la variation phénotypique qui est d'origine génétique (Falconer and Mackay 1996). Il a été montré que certains comportements ont des bases uniquement génétiques chez les poissons. Par exemple, des expériences en laboratoire ont montré que la sélection de la profondeur, l'ampleur des changements de direction ainsi que la nage d'accélération (angl. : burst swimming) sont régies par des effets génétiques additifs chez le grand corégone (Rogers et al. 2002). Les traits qui sont uniquement dû à la transmission génétique sont stables et transmissibles de génération en génération.

1.4.2 Plasticité phénotypique

La plasticité phénotypique permet à plusieurs phénotypes d'être exprimés par un seul génotype, dépendamment des conditions environnementales (Stearns 1989; Pigliucci et al. 2006; Whitman and Agrawal, 2009). Ceci peut mener à des changements de traits qui sont adaptatifs ou non pour le nouvel environnement. Dans certains cas, ces changements

peuvent même être réversibles si les conditions environnementales changent (Proulx and Magnan 2004). La plasticité phénotypique peut être le résultat de processus actif ou passif (Scheiner 2006), les deux pouvant affecter le même trait (Bell and Galloway 2007). La plasticité phénotypique « passive » correspond aux changements phénotypiques non régulés par l'organisme, qui sont dus à un changement des conditions physicochimiques de l'environnement (p. ex., température, salinité, disponibilité en nutriments) qui altère les propriétés de composantes chimiques, enzymatiques et cellulaires de l'organisme (Whitman and Agrawal 2009). La plasticité passive est donc la variation phénotypique expliquée exclusivement par l'environnement (Angers et al. 2020). La plasticité phénotypique « active » est quant à elle caractérisée par les changements phénotypiques résultant de la modification de l'expression des gènes et des voies de développement induits par les conditions environnementales (Scheiner 2006; Whitman and Agrawal 2009). La plasticité agit sur une multitude de processus qui peuvent mener à de la radiation adaptative (Schneider and Meyer 2016; Pfennig et al. 2010). La plasticité phénotypique a d'ailleurs été proposée comme mécanisme de l'expression du polymorphisme associé aux ressources (Robinson and Wilson 1994; Smith and Skúlason 1996). Un écosystème peut présenter plusieurs niches écologiques différentes, ayant des ressources et des conditions environnementales variables (Robinson and Wilson 1994; Smith and Skúlason 1996). Une espèce plastique peut présenter des phénotypes différents associés à l'utilisation de ces niches écologiques différentes. Les phénotypes peuvent éventuellement se fixer selon deux mécanismes différents, soit par 1) accommodation génétique, où le phénotype devient de moins en moins plastique par sélection ou 2) assimilation génétique, quand les phénotypes perdent leur capacité de répondre à l'environnement (Schneider and Meyer 2016; Pfennig

and Ehrenreich 2014). Ce polymorphisme peut éventuellement mener à une différenciation génétique et, sur une échelle temporelle plus longue, mener à un phénomène de spéciation à la suite du développement d'un isolement reproducteur (Smith and Skúlason 1996).

1.4.3 Épigenétique

Les effets épigénétiques sont traduits par la suppression ou l'expression différente d'un gène sans affecter la séquence de l'ADN de ce dernier (Berger et al. 2009; Angers et al. 2010). Ceci peut être dû à différents mécanismes cellulaires qui peuvent être influencés par l'environnement, comme entre autres, la modification des histones (p. ex., acétylation), la modification de l'ADN (p. ex., méthylation) et les ARNs non codants (Russo et al. 1996; Duncan et al. 2014, Angers et al. 2010, 2020; Gluckman and Dearden 2014). Ces mécanismes régulent les produits des gènes via des processus pré ou post transcriptionnel (Murrell et al. 2005). Ils contrôlent l'expression des gènes en modifiant la chromatine ou le paysage génétique par l'épigénotype (Murrell et al. 2005). L'épigénotype fait référence aux étiquettes chimiques établies par la machinerie épigénétique, tel que des profils de méthylation d'ADN ou des protéines histones (Angers et al. 2020). La variation de l'épigénotype peut être quant à elle séparée en trois sources différentes : l'interaction entre l'environnement et les processus épigénétiques (induit par l'environnement), l'interaction entre le génotype et les processus épigénétiques (induit génétiquement) et les épimutations, soit la variation épigénétique « pure » (Angers et al. 2020). Les épimutations sont aléatoires, au même titre que les mutations dans la variation génétique (Angers et al. 2020). Un des mécanismes épigénétiques le plus connu est la méthylation de l'ADN, qui consiste à ajouter un groupement méthyle (CH_3) à la base azotée cytosine, souvent au dinucléotide

Cytosine-phosphate-Guanine (CpG) (Bird 2002). Cet ajout structurel peut activer, réduire ou complètement supprimer l'expression d'un gène sans affecter la séquence de l'ADN, contrairement à la mutation (Angers et al. 2010; Dachin et al. 2011). L'effet de l'environnement peut avoir une grande influence sur l'expression du phénotype par l'entremise de la méthylation de l'ADN (Angers et al. 2010; Dachin et al. 2011). La méthylation de l'ADN se transmet d'une cellule à une autre, c'est-à-dire de façon mitotique (Crews 2008). Les groupements méthyles attachés sont répliqués lors de la réplication de l'ADN. Cependant, ces modifications épigénétiques ne sont pas toujours transmises lors de la méiose. Pour que la méthylation de l'ADN soit transmise à la génération suivante, et donc que des traits ou phénotypes soient transmissibles, les gamètes doivent retenir ces méthylations à la suite de la méiose, ce qui est appelé « héritabilité méiotique épigénétique » (Crews 2008). Il a été montré que certaines modifications épigénétiques présentes sur les gamètes peuvent affecter le développement des zygotes et donc peuvent être transmises à la prochaine génération (Angers et al. 2010). Cela suggère que les stimuli environnementaux que subit un parent peuvent amener une variation phénotypique au courant de sa propre vie, mais également contribuer à la variation du phénotype de sa progéniture, processus appelé « transmission épigénétique transgénérationnelle » (Galloway and Etterson 2007, Angers et al. 2010, 2020). Ce phénomène a été montré expérimentalement chez les plantes. Par exemple, Galloway et Etterson (2007) ont montré que l'histoire de vie de la progéniture est influencée par l'environnement lumineux maternel (sous la canopée versus des trous de lumière). Les plantes ayant été cultivées dans le même environnement lumineux que leur mère ont présenté une valeur sélective (angl. : fitness) de 3.4 fois plus élevée qu'autrement (Galloway and Etterson, 2007). Cette plasticité

transgénérationnelle est adaptative lorsque la progéniture croît dans l'environnement lumineux maternel où se dispersent généralement les graines (Galloway and Etterson, 2007).

Le phénomène de transmission épigénétique transgénérationnelle a également été montré expérimentalement chez une espèce animale vertébrée. Dias et Ressler (2014) ont montré chez les souris que l'expérience des parents pouvait se transmettre à la génération suivante sans que ce soit de l'héritabilité proprement dite (Dias and Ressler 2014). Dans leur expérience, ils ont soumis des souris de première génération (F0) à un conditionnement de peur (une décharge électrique) associée à une odeur particulière, soit l'acétophénone, dont le récepteur olfactif est connu (Olfr151). Ils ont observé que les rejetons (F1) soumis à la même odeur, sans conditionnement préalable, ont eu une réaction de peur lorsque soumis à l'acétophénone, mais pas à d'autres odeurs utilisées dans les expériences. Ils ont fait reproduire les mâles F1 et ont retrouvé les mêmes résultats pour la F2. Ils ont analysé la séquence d'ADN des spermatozoïdes des mâles F0 conditionné et des F1 non conditionnés et ont trouvé une hypométhylation au locus du gène codant pour le récepteur olfactif Olfr151 chez les mâles des deux générations. Dans ce cas-ci, cette méthylation s'est transmise sur les gamètes et l'expression du gène modifié a été transmise à la descendance jusqu'à la deuxième génération (F0 à F2).

D'autres études ont examiné la transmission d'adaptation structurelle et comportementale pour un stimulus spécifique. Par exemple, l'apprentissage in utero d'aversion d'un goût affecte la préférence et l'évitement de certaines saveurs et odeurs selon l'alimentation de la mère durant la gestation (Stickrod et al. 1982). De plus, la qualité des soins maternels est transmise sur plusieurs générations chez les rongeurs (Champagne

et Meaney 2006). Les origines fœtales de maladies ont été suggérées pour une multitude de troubles comme ayant les racines dans les expériences du fœtus avec l'environnement parental durant la gestation (Hales and Barker 2001). Au niveau chemosensoriels, un comportement anti-prédateur est transmis de femelles crickets gravides à leurs rejetons, quand les femelles sont exposées à une haute densité de prédateurs (Storm and Lima 2010).

1.5 Problématique

Jusqu'à présent, peu d'études ont été réalisées sur les effets épigénétiques dans les populations naturelles (Bossdorf and Chang 2011). Les mécanismes épigénétiques peuvent amener des adaptations durant la vie d'un individu et transmettre ces adaptations à la génération suivante (Storm and Lima 2010; Champagne and Meaney 2006; Dias and Ressler 2014). Ceci pourrait accélérer les processus évolutifs, car les modifications moléculaires sur l'ADN subies durant la vie de l'individu peuvent être transmises à la prochaine génération (Angers et al. 2010; Dachin et al. 2011; Smith and Ritchie 2013). Les individus d'une même population faisant une utilisation différentielle de ressources ou d'habitats pourraient acquérir des modifications épigénétiques qui pourraient augmenter leur valeur sélective (Angers et al. 2010; Dachin et al. 2011). Ces modifications peuvent s'exprimer de différentes façons. Par exemple, une fonction physiologique peut être surexprimée ou un comportement peut être modifié afin de mieux performer dans un environnement donné (Angers et al. 2010). Il est donc important de mieux comprendre la contribution épigénétique sous-jacente à un polymorphisme associé aux ressources, le cas échéant.

Tel que mentionné précédemment (section 1.3), il a été montré que des parents littoraux et pélagiques d'une population naturelle d'omble de fontaine ont transmis certains traits morphologiques et comportementaux à leur progéniture élevée en laboratoire (Sacotte and Magnan 2006). Cette étude avait conclu que la transmission de ces traits avait des bases uniquement génétiques (i.e. processus héréditaires). Cependant, avec l'avancée des travaux récents sur l'épigénétique, d'autres hypothèses doivent aujourd'hui être considérées. Les différences morphologiques et comportementales observées entre les différentes formes de l'omble de fontaine pourraient donc être la conséquence d'une transmission héréditaire (i.e. bases uniquement génétiques; Schneider and Meyer 2016), d'une plasticité phénotypique (Schneider and Meyer 2016; Pfennig 2010; Whitman and Agrawal 2009; Schulte 2000; Price 2003) ou d'une transmission épigénétique transgénérationnelle, des parents à la génération F1 (Angers et al. 2010, 2020; Dachin et al. 2011). Il est donc important de déterminer si la transmission de traits morphologiques et comportementaux se maintient à travers les générations afin de distinguer les effets épigénétiques des effets génétiques et phénotypiques.

1.6 Objectifs et prédictions

Les objectifs de mon projet de maîtrise étaient de distinguer les effets épigénétiques et génétiques dans la transmission de certains traits de la morphologie et du comportement alimentaire des formes littorale et pélagique de l'omble de fontaine. Étant donné que les marques épigénétiques les plus actives sur le génome ne devraient pas persister plus qu'une génération (Anger et al. 2020 et références citées), une héritabilité génétique « pure » devrait être considérée si elle persiste jusqu'à la seconde génération (F2), et ce, même si

des traits peuvent être transmis des parents à la génération F1 par une héritabilité épigénétique transgénérationnelle.

Des juvéniles (0+) de génération F1 et F2 issus de parents F0 provenant du milieu naturel ont été élevés en laboratoire dans les mêmes conditions, jusqu'à quatre mois d'alimentation exogène avec de la moulée commerciale. Des individus de chacune des formes ont ensuite été soumis à des expériences d'alimentation sur des proies benthiques (vers de sang) et du zooplancton vivant (*Daphnia* sp.), et leurs traits morphologiques ont été mesurés et comparés à ceux des parents F0. Les sujets expérimentaux n'avaient jamais été en contact avec des proies naturelles. Si les traits du polymorphisme associé aux ressources sont transmis aux deux générations (F1 et F2), cela suggérera une transmission génétique « pure » alors que s'ils sont transmis à la génération F1, mais non à la génération F2, cela suggérera une transmission épigénétique transgénérationnelle de ces traits, des parents F0 à leur progéniture F1.

Nous avons assumé que les traits morphologiques utilisés pour identifier des formes littorale et pélagique sur le terrain étaient représentatifs de leur préférence pour les proies benthiques et littorales respectivement. Cette supposition est basée sur les résultats de deux études du même système qui ont examiné les différences dans l'alimentation (Rainville et al. 2021a) et la morphologie (Rainville 2021b) d'ombles de fontaine capturés en zone littorale et pélagique de 27 et 18 lacs, respectivement.

Chapitre II

Multi-generational transmission of behavioral and morphological traits in littoral and pelagic brook charr (*Salvelinus fontinalis*): evidence of transgenerational epigenetic inheritance

Article qui sera soumis au journal scientifique *Behavioral Ecology*

Alexandre East, Marc Pépino and Pierre Magnan

Research Centre for Watershed - Aquatic Ecosystem Interactions, Université du Québec à
Trois-Rivières, C. P. 500, Trois-Rivières, Québec, G9A 5H7 Canada

Corresponding author: Pierre Magnan; Pierre.Magnan@uqtr.ca

Abstract. A better knowledge of mechanisms driving trait variations of organisms is of prime importance to understand the evolution of natural populations. A previous study showed that some foraging behaviors and morphological traits of littoral and pelagic brook charr (*Salvelinus fontinalis*) ecotypes were transmitted from wild parents to their F1 laboratory-raised progeny. These results could be due to fixed gene expression or epigenetic mechanisms (the transmission of traits from parents to their progeny without DNA alterations, which are not expected to last longer than one generation). The objective of the present study was to test if the transmission of selected foraging behavior and morphological traits are of genetic or epigenetic nature in brook charr ecotypes. Foraging experiments conducted with benthic and pelagic prey revealed that F1 laboratory-raised littoral offspring consumed significantly more benthic prey than pelagic offspring while both ecotypes showed no difference in the number of planktonic prey consumed. F1 offspring from both ecotypes preferred benthic prey at their first feeding day (i.e. when completely naïve with natural prey) but this preference was significantly higher for littoral than pelagic individuals. No significant differences were found in the foraging behavior of the two F2 ecotypes. The traits used to identify the ecotypes in the field showed a weak degree of transmission to F1 and F2 generations. These results suggest that inheritance of the foraging behavior to the F1 littoral offspring results from a transgenerational epigenetic mechanism and support the hypothesis that behavioral diversification precedes morphological diversification in fishes.

Keywords: Heritability, resource polymorphism, foraging behavior, functional morphology, phenotypic plasticity

Introduction

Traditionally, two mechanisms were considered to explain the expression of traits in organisms: inherited genetic transmission from the parents and phenotypic plasticity, the capacity of single genotypes to produce different phenotypes in response to varying environmental conditions (Whitman and Agrawal 2009; Pigliucci et al. 2006; Pfennig et al. 2010; Schneider and Meyer 2017). However, recent development in molecular biology identified a third mechanism, the transgenerational epigenetics inheritance, by which the exposure of parents to certain environmental conditions could influence the phenotypic response of the next generation (Galloway and Etterson 2007; Skvortsova et al. 2018; Perez et al. 2019; Iwanami et al. 2020). This mechanism involves epigenetic processes like DNA methylation, histone modifications, and non-coding RNAs, and results in stable heritable phenotypes without genetic determinism (Angers et al. 2010, 2020; Berger et al. 2009; Bossdorf and Zhang 2011; Dachin et al. 2011; Best et al. 2018).

Recent reviews highlighted that transgenerational epigenetic inheritance could be involved in the process of diversification and speciation in different ways (Ledón-Rettig et al. 2013; Smith and Ritchie 2013; Schneider and Meyer 2017). For example, phenotypic plasticity might lead to the divergence of ecological and reproductive traits through genetic accommodation or assimilation, and epigenetic mechanisms might facilitate this process by providing the environmentally sensitive developmental response (Smith and Ritchie, 2013). Epigenetic inheritance may also buffer against short-term environmental changes that would otherwise interfere with an ongoing process of genetic assimilation (Schneider and Meyer 2017). In these contexts, epigenetic marks themselves would be under selection

if stable and heritable, and selection could also be targeting genetic variants controlling epigenetic patterns (Smith and Ritchie 2013).

Resource polymorphism, i.e., when discrete phenotypes of the same population show differential niche use, arises from local adaptations to differential use of resources in distinct habitats and could result in morphological, behavioral or life history differences between ecotypes (Smith and Skúlason 1996; Schluter 2000; Skúlason et al. 2019). These differences could give an adaptive advantage to individuals and could be an evolutionary force leading to speciation if there is eventually reproductive isolation (Skúlason et al. 2019). Common examples of this phenomenon are fish species found in depauperate post-glacial lakes of the northern hemisphere. These lakes typically include coexisting benthic and pelagic ecotypes that are better adapted to feeding on bottom organisms or zooplankton, respectively (Robinson and Wilson 1994; Smith and Skúlason 1996). While the ecological drivers of resource polymorphism in postglacial fishes have been extensively studied, investigations of the intrinsic factors underlying phenotypic divergence, including the genetic, developmental and physiological underpinnings, have received less attention (Skúlason et al. 2019).

Brook charr (*Salvelinus fontinalis*) exhibit a subtle resource polymorphism in some Canadian Shield lakes (Bourke et al. 1997, 1999; Dynes et al. 1999; Rainville et al. 2021a, b). The littoral ecotype has a deeper body and longer pectoral fins, is found in shallow water (0–3 m) and feeds mainly on zoobenthos. The pelagic ecotype has a more streamlined body shape with shorter pectoral fins, is found in deeper waters (4–6 m) and feeds mostly on zooplankton. Morphological differences between ecotypes seem to be determined by both genetic and environmental factors (Dynes et al. 1999; Proulx and Magnan 2004;

Pépino et al. 2018). It has also been observed that morphological differentiation associated with resource polymorphism is functionally related to the swimming performance and energetics of the two ecotypes (Proulx and Magnan 2002; Rouleau et al. 2010). A previous study suggested that some foraging behaviors and morphological traits of littoral and pelagic brook charr were transmitted from wild parents (F0) to laboratory-raised young of the year individuals (F1); foraging experiments indicated that naive littoral offspring were significantly more efficient than pelagic offspring when feeding on bloodworms (higher capture rate and lower rejection rate) and exhibited, like their parents, a deeper body as well as longer pectoral and dorsal fin than pelagic offspring (Sacotte and Magnan 2006). The authors concluded that these results supported inherited genetic differences in morphology and foraging behaviour in brook charr ecotypes. However, given the recent development of the field, it is possible that these observations could have been the results of epigenetic mechanisms.

The objective of the present study was thus to test if the transmission of selected foraging behavior and morphological traits are of genetic or epigenetic nature in brook charr ecotypes. Experiments were done with laboratory-raised offspring of littoral and pelagic brook charr from F1 and F2 generations, originating from wild parents (F0). Given that most of the active epigenetic marks on the genome are not expected to last longer than one generation (Anger et al. 2020 and reference therein), true genetic inheritance should be considered if it occurs in the F2 progeny, even if some traits could be transmitted to the F1 generation through transgenerational epigenetic inheritance. In this context, if the foraging behavior and morphological characters considered are transmitted over two generations (F1 to F2), this will suggest a genetic inheritance of these traits while if they

are not transmitted to the F2 generations, this will suggest a transgenerational epigenetic inheritance of the traits to the F1 generation. Systems that have undergone recent ecological divergence with species exhibiting differential behavioral traits, like the brook charr resource polymorphism in Canadian Shield lakes (Dynes et al. 1999), were identified to be particularly suitable to study epigenetic mechanisms (Ledón-Rettig et al. 2013).

Material and methods

Experimental fish and rearing conditions

During the fall of 2015, mature brook charr (F0) were sampled using gill nets on the main spawning ground of Lake Ledoux (46°48'10''N, 73°16'45''W), Mastigouche Reserve, Québec, Canada. To identify ecotypes in the field, we used allometric relationships between body and fin lengths that had been developed for each form in a previous study (Bourke et al. 1997). Pelagic individuals were selected if the lengths of both pectoral and dorsal fins were below those expected from the size-adjusted regression lines for the pelagic form while the littoral fish were selected if the lengths of both fins were above the size-adjusted regression line for the littoral form.

The sexual products of five littoral and five pelagic families (one male and one female per family; full siblings) were fertilized using the dry method as described by Piper et al. (1982). All parents (F0) used to produce the F1 families were photographed after extraction of sexual products (eggs and milt) for subsequent morphological analyses (see details below). The F0 parents were returned to the lake after manipulations.

The eggs were placed in ascending current incubators (Marisource, Wilton, WA) at a temperature of 8 ± 0.2 °C controlled by a glycol cooling system in our laboratory. After

hatching, 150 individuals of each family were transferred to ten 76-litre rearing tanks (one tank for each family). After yolk sac resorption, exogenous feeding started using commercial trout pellets (Skretting Nutra XP 0,3mm, 0,5mm, 0,7mm, 1,0mm, 1,5mm) distributed from automatic overhead feeders that functioned continuously over the daylight period, which was adjusted weekly to match the actual photoperiod of the year. All rearing tanks were equipped with a biofiltration and glycol cooling systems. Fish were kept at 10 ± 0.2 °C for the first month of rearing and then were kept at 12 ± 0.2 °C for the rest of the rearing period. One month before the beginning of the foraging experiments (see details below), the water temperature of the rearing tanks was raised to 15 ± 0.2 °C to let the fish adapt to the experimental conditions (the ambient temperature of the laboratory). During the rearing period, water quality was tested weekly. The pH, tested with a pH meter (Accumet® Research AR20 pH/Conductivity), was maintained at 7.4 ± 0.2 using a buffer of sodium bicarbonate (NaHCO_3) while ammonia (NH_3 ; mg L^{-1}) and nitrite (NO_2 ; mg L^{-1}) were estimated using standard procedures (American Public Health Association 1989) and kept within the tolerance limits for salmonid aquaculture (MAPAQ 1990).

At the end of the summer 2016, 50 individuals of each F1 family were transferred to larger tanks (640 L) to bring individuals to sexual maturity. During the fall of 2017, F1 individuals were mature and could be used to produce the F2 generation. The artificial fertilization and rearing conditions were the same as described above. The F2 families were issued from 10 males (5 littoral, 5 pelagic) and 40 females (20 littoral, 20 pelagic) from the F1 families, to avoid inbreeding. We selected one F1 male to fertilize the eggs of four distinct F1 females from other families of the same ecotype, which produced 20 littoral families and 20 pelagic families. However, because the laboratory could only

accommodate 36 families, 4 families were randomly dropped for the rest of the study. Details of family crosses and sample size are presented in figures S1 & S2.

Foraging experiments

The foraging experiments began after four months of exogenous feeding in twenty-seven 50L aquaria (40 cm high x 50 cm long x 25 cm wide). Each aquarium was modified to have a sliding door to split the aquaria longitudinally into two equal compartments. The rear part of the aquaria was covered with white chloroplasts while both ends with black chloroplasts to eliminate mirror effect (which was an issue in a pilot study). Each aquarium had a 18-cm water column and was equipped with an overhead fluorescent (Aqua-Glo Fluorescent, 14 W), regulated to the photoperiod of the laboratory. All aquaria were equipped with air stones for proper water oxygenation and degassing. They were mounted on shelves and a black curtain was placed all around the shelves allowing making the observations without stressing the fish, through small windows in the curtain. All experiments were done at the laboratory temperature (15 ± 1 °C).

Foraging experiments consisted of five identical trials with each tested fish. Each trial was repeated for five consecutive days between 10:00 AM and 04:00 PM. One fish was introduced in the left side of the sliding door of each aquarium, 24 hours before the first trial. The fish were not fed during this period. Both the family and experimental fish were selected randomly. The foraging experiments consisted to submit fish to a choice of benthic and pelagic prey that were representative of their natural habitat; small red larvae from midge flies (*Chironomidae*) commercially available and zooplankton (*Daphnia* sp.) harvested from the wastewater ponds of the City of Trois-Rivières on each experimental

day. The fish were completely naïve to these kinds of prey before their first trial. Before the beginning of a trial, 15 benthic and 15 pelagic prey were introduced in the right section of the aquarium. The trial started approximately 30 minutes after the introduction of the prey. During trial, air bubbling was stopped ensuring a good observation quality. The fish did not show any signs of stress during the experiments.

Each trial lasted for a total of 600 seconds. At $t=0$, the sliding door was opened giving the fish access to the prey. We used the application Animal Behavior Pro (<https://apps.apple.com/us/app/animal-behaviour-pro/id579588319>) on a mini iPad to record the time at which each of the following events occurred: when the fish entered the right side of the aquarium; when it fed a benthic or a planktonic prey, and when it rejected a benthic or a planktonic prey (i.e., prey ejected from the mouth after being grabbed). At the end of the trial, the fish was returned to the left side of the arena and the remaining prey were removed. These manipulations were repeated for five consecutive days with the same individual. Once the five trials were done, the aquaria were emptied, cleaned and filled with dechlorinated water for the next trials with a new experimental fish.

Morphological measurements

At the end of the five trials, the experimental fish was euthanized with a solution of tricaine methanesulphonate (MS-222) at a concentration of 1g/L with a buffer of sodium bicarbonate (NaHCO_3) at 2g/L and photographed from a Kaiser copy stand (model RS 2) equipped with a Canon PowerShot SX210 IS digital camera, always from the same height and ambient light. All fish were photographed lying flat on its left side in a lateral position against a scale for reference. A total of 30 two-dimensional landmarks were digitized

directly from the photographs in a Cartesian system (Fig. 1), using the computer program tpsDIG2 (Rohlf 2005). Of these, 13 were used for trait analysis and 15 for body shape analysis (see details below). The same person (A. East) digitized all photographs in order to minimize landmark bias. Only the mouth width was taken manually with a Mitutoyo absolute digimatic caliper (± 0.01 mm). Total length (± 0.5 mm) and mass (± 0.1 g) were also measured. With the exception of F0 parents, which were captured during the spawning season, sex could not be determined for the laboratory-raised offsprings because gonads were not enough developed at this stage.

Field sampling of gravid individuals (F0), breeding, fish rearing, foraging experiments and morphological measurements met the Canadian Council on Animal Care regulations which were supervised by the Animal Care Committee of Université du Québec à Trois-Rivières (animal care certificates #2014-P.M.37, #2014-P.M.39 and #2018-P.M.)

Statistical analyses

Non-linear mixed effect modelling (NLME package; Pinheiro et al. 2020) was used to integrate foraging behaviors of the five days of experiment. We used a logistic function to model the consumption of prey relative to experimental days as:

$$\text{Prey} = \frac{\delta}{1 + \exp\left(\frac{\theta - t}{\varphi}\right)}$$

where Prey is the number of prey consumed (benthic or planktonic), δ is the asymptotic height of the number of prey consumed, θ is the timing at which the fish consumed half the prey (asymptotic height), φ models the time elapsed between consuming half and $\frac{3}{4}$ of the prey and t is the experimental days, from 1 to 5. The asymptotic height parameter varied

according to the ecotype as fixed effect while the family and experimental fish as random effects. Log-likelihood ratio test shown that including the family and experimental fish as random effects in the other two parameters did not improve model fit.

Not all fish fed prey on the first day of an experiment. The first day a fish fed a prey is the one where it made a completely naïve choice (i.e., no experience achieved through trials). For each individual, we calculated the number of benthic prey minus the number of planktonic prey consumed on the first feeding day to quantify its initial preference (i.e., benthic or planktonic prey). This index of prey preference vary from -15 (all planktonic prey and no benthic prey consumed) to +15 (i.e., all benthic prey and no planktonic prey consumed), while zero indicates no preference (i.e., equal number of benthic and planktonic prey consumed). To compare the prey preference between the two ecotypes on the first feeding day, we used a Welch two sample t-tests with the index of individual prey preference described above as the response variable and the ecotype as the independent variable. We also used Welch two sample t-tests to quantify the effect of the ecotype on the number of total prey consumed.

For the trait analyses, traits and total length were first standardized (mean of 0 and standard deviation of 1). For the F0, the effect of body size (total length) and ecotype was removed by the “common-within group” regression slope method (Fleming et al. 1994; Reist 1986). For the F1 and F2, the effects of body size (total length), ecotype and family were removed by linear mixed modelling techniques (e.g. Pépino et al. 2018). This procedure followed the general recommendation of common-within group regression slope, but was extended to multiple sources of variation (groups and covariates) for nested data (i.e., using mixed models). Zuur et al. (2007) recommend verifying the linear

relationships among variables before conducting discriminant analyses (see below) and suggest removing one of the variables when the correlation between two is 0.9 or higher. For the F0, two traits (mid-head length and maxillary bone length) were dropped from the analyses because the correlations with head length exceeded 0.9. For the F1 and F2 generations, relationships among adjusted morphological traits were approximately linear, with mainly positive correlations that never exceeded 0.70 and 0.76 respectively (Pearson correlations).

Linear discriminant function analysis (DFA) was used to assess which, if any, of the morphological traits were the most efficient to predict group membership of the littoral and pelagic individuals (two groups). We verified the condition of multivariate homogeneity of within-group covariance for each generation, following the general recommendations of Borcard et al. (2011); F0; permutation test; $n = 999$, $F_{1, 18} = 0.0431$, $p = .831$; F1; permutation test; $n = 999$, $F_{1, 106} = 0.0001$, $p = .993$; F2; permutation test; $n = 999$, $F_{1, 213} = 0.0911$, $p = .794$). The jackknife method (i.e., leave-one out cross validation) of classification was used to cross-validate group attribution (Lance et al. 2000; Olden et al. 2002). We used the “MASS” package (Venables and Ripley 2002) for LDA and the “CANDISC” package (v.0.6-5) for calculating the canonical correlation coefficients.

For the shape analysis, multivariate regression (MANOVA) was used to see if there are any differences in body shape between ecotypes of F1 and F2 generation using the “geomorph” package (Collyer and Adams 2018; Collyer and Adams 2019). Landmarks of shape were previously aligned using Generalized Procrustes Analysis (GPA) used to superimpose the specimens to a common coordinate system by holding constant variation in their position, size and orientation (Adams and Otárola-Castillo 2013). For F1 and F2,

ecotypes and families were used to explain the resulting shape variation. We used the function `procD.lm` from the `geomorph` package which performs Procrustes mixed-model ANOVA with residual randomization in permutation procedures (RRPP), to assess statistical hypotheses describing patterns of shape variation and covariation for a set of Procrustes shape variables (Collyer and Adams 2018). For F1 and F2, a first model with the family only was compared with a second model containing the family and ecotype, to highlight the importance of the ecotype in shape variation (Adams and Otarola-Castillo 2013). For the F0 generation, we used a Procrustes ANOVA to test the effect of the ecotype and sex. All analyses were made using R-3.4.2.

Results

Foraging behavior

For the F1 generation, the asymptotic parameter of the logistic curve model showed that littoral individuals consumed significantly more benthic prey than pelagic individuals at the end of the five-day trials (Littoral: 9.64 ± 0.63 vs. Pelagic: 7.81 ± 0.81 ; $P = 0.025$; Fig. 2). However, there was no significant difference in the number of planktonic prey consumed by the F1 littoral and pelagic individuals (Littoral: 5.64 ± 0.61 vs. Pelagic: 5.80 ± 0.85 ; $P = 0.852$; Fig. 2). For the F2 generation, we found no significant differences in both the number of benthic and planktonic prey consumed by littoral and pelagic individuals at the end of the five-day trials (Benthic prey: Littoral: 8.11 ± 0.60 vs. Pelagic: 9.03 ± 0.83 ; $P = 0.264$; Planktonic prey: Littoral: 2.78 ± 0.35 vs. Pelagic: 3.28 ± 0.48 ; $P = 0.299$; Fig. 2).

For the F1 generations, there were no significant differences in the total number of prey consumed by littoral and pelagic individuals at their first feeding day (Welsh t-test = 0.127, $P = 0.899$; Fig. 3). Both ecotypes preferred benthic prey at their first feeding day (index of preference above zero with no overlap of the 95% I.C. with zero; Table 1), but the index of preference for benthic prey was significantly higher for littoral than pelagic individuals (Welsh test = 3.56; $P < 0.001$; Table 1).

For the F2 generations, the total number of prey consumed by littoral and pelagic individuals did not differ at their first feeding day (Welsh t-test = 0.156, $P = 0.716$; Fig. 3). Both ecotypes showed a high preference for benthic over the planktonic prey at their first feeding day (Table 1 and Fig. 3) and there were no significant differences in the index of preference between littoral and pelagic individuals (Welsh t-test = -0.68; $P = 0.494$; Table 1).

Morphology

The DFA based on morphological traits indicated significant differences between littoral and pelagic ecotypes for all generations tested (F0; $\lambda = 0.218$, $p < 0.05$, F1; $\lambda = 0.75$, $p < 0.01$ and F2; $\lambda = 0.79$, $p < 0.0001$). The frequency distributions of the discriminant function scores show small overlap between the two ecotypes in F0 but large overlap between the two ecotypes in the next two generations (Fig. 4). The *a posteriori* classification accuracy of the DFA correctly reclassified 7 of 10 littoral individuals (70%) and 7 of 10 pelagic individuals (70%) for the F0. The DFA on F1 generation correctly reclassified 34 of 54 littoral individuals (63%) and 33 of 54 pelagic individuals (61%) to their appropriate group, for an overall classification of 62%. For the F2 generation, 74 of

110 (67%) littoral individuals and 71 of 105 pelagic individuals (67%) were reclassified to their appropriate group for an overall classification of 67%. A random classification would have been ~50% for each group. The distribution of morphometric canonical scores illustrates that traits that better discriminated each ecotype were not completely redundant among generations (Fig. 4). For the F0, the pectoral fin length (PFL) and the length of the anal fin base (AFB), characters used to identify the ecotypes in the field, better discriminated the groups, the littoral ecotype having longer fins. For the F1, the length of the anal fin base (AFB), head length (HL), pelvic fin length (PFH) and body depth (BD) better discriminated the groups, the littoral ecotype having longer fins and head length but having lower body depth than the pelagic ecotype. For the F2, canonical correlation coefficients of the length of the dorsal fin base (DFB), maxillary bone length (MBL), pectoral fin length (PFL) and head length (HL) better discriminated the groups, the littoral ecotype having longer fins, maxillary bone and head length than the pelagic ecotype.

For the F1 offspring, the mean size-adjusted ($\pm$ standard error) pectoral fin and the dorsal fin base (characters used to identify the ecotypes in the field) were 11.25 mm ($\pm$ 0.11) and 8.94 mm ($\pm$ 0.05) respectively for the littoral form, and 11.03 mm ($\pm$ 0.11) and 8.90 mm ($\pm$ 0.05) respectively for the pelagic form. These values represent an overall difference of 1.96% for the pectoral fin and 0.45% for the dorsal fin base between the two ecotypes (Fig. 6). For the F2 offspring, these values were 10.06 mm ($\pm$ 0.09) and 8.52 mm ($\pm$ 0.06) respectively for the littoral form, and 9.69 mm ($\pm$ 0.09) and 8.07 mm ($\pm$ 0.09) respectively for the pelagic form. These values represent an overall difference of 3.68% for the pectoral fin and 5.28% for the dorsal fin base between the two ecotypes (Fig. 6)

The Analysis of Variance using Residual Randomization Permutation procedure (RRPP) showed no significant difference in body shape between the two ecotypes for the F0 ($P= 0.826$), F1 ($P= 0.09$) and F2 ($P= 0.5$) generations. For the F0, a model using the sex showed differences between male and female shape ($P= 0.001$). These results were supported by visualizing the superimposition of the mean consensus shape versus the mean shape of the littoral and pelagic ecotypes for the F1 and F2 generations (Fig. 5).

Discussion

This study suggests that some selected foraging behaviors of littoral brook charr were transmitted from the wild parents (F0) to their laboratory-reared offspring (F1), which were completely naïve with natural prey. The results on the F2 offspring indicated that none of these foraging behaviors were transmitted to the second generation, suggesting that their inheritance to the first generation results from a transgenerational epigenetic mechanisms. The DFA analyses on morphological traits provided low classification rates of littoral and pelagic F1 and F2 offspring while morphological characters used to identify the ecotypes in the field (pectoral fin and the dorsal fin base) showed a weak degree of transmission from the parents to the F1 and F2 laboratory-reared offspring.

Inheritance of foraging behavior

In this study, we assumed that morphological characters used to identify the littoral and pelagic ecotypes in the field were representative of their preference for benthic and planktonic prey respectively. This assumption is valid based on two studies on the same system which examined difference in diet (Rainville et al. 2021a) and morphology

(Rainville 2021b) of brook charr captured in littoral and pelagic zones of 27 and 18 lakes, respectively. In this context, the higher preference for benthic than planktonic prey over the five days of the experiments in littoral F1 offspring appeared to be stable in this brook charr population (Lake Ledoux). Indeed, it is noteworthy that the results of the present study confirmed those of Sacotte and Magnan (2006), who used a different experimental design. In addition to Sacotte and Magnan (2006), we examined the preference of littoral and pelagic F1 individuals at the first day a fish fed a prey, the trial where an individual make a complete naïve choice between the benthic and planktonic prey, and the results were comparable to the higher preference for benthic prey over the five days of the experiments; F1 offspring from both ecotypes preferred benthic prey at their first feeding day but this preference was significantly higher for littoral than pelagic individuals.

It is also striking that both studies (Sacotte and Magnan 2006 and the present study) did not find any difference in the preference of littoral and pelagic F1 offspring for zooplankton prey (*Daphnia* sp). This result could be an artefact related to the way the fish were fed during the first four months of exogenous feeding. During this period, the individuals of both ecotypes were fed with fine grain commercial food pellets distributed from overhead automatic feeders. Both ecotypes were thus ‘acclimated’ to feeding on trout pellets slowly sinking in the water column, a foraging mode more related to feeding on zooplankton.

Sacotte and Magnan (2006) limited their study to the F1 laboratory-reared offspring. The results of the present study showed that both the preference of littoral and pelagic F1 individuals for a given prey type at the first feeding day and the preference for a given prey type during the five days of the experiments were not significantly different, and moreover,

very similar between ecotypes for the F2 offspring. These results first suggest that the observed transmission of some foraging behavior from the wild parent (F0) to the littoral F1 offspring is probably due to transgenerational epigenetic mechanism because the differences between the two ecotypes were lost at the F2 generation. In the absence of the natural environmental signal (i.e. littoral foraging), the gametes of littoral individuals from the F1 generation did not respond to this signal and thus, did not transfer it to littoral individuals of the F2 generation. In this context, the similar foraging behavior of the two ecotypes observed at the F2 generation could be the result of their similar rearing conditions, through phenotypic plasticity, or to a transgenerational epigenetic inheritance from the F1 individuals, which were submitted to the same environmental (laboratory) cues. The higher preference of both F2 ecotypes the benthic prey could also be the result a selection for the larger prey in the absence of any natural signal from the parents. At a broader level, our results suggest that the mechanism underlying the resource polymorphism in brook charr is based on an interaction of “gene x environment” during the development of individuals (within generation phenotypic plasticity) reinforced by a transgenerational epigenetic inheritance (exposure of parents to environmental conditions which influence the phenotypic response of the next generation). To date, most studies on epigenetics focused their attention on the molecular mechanisms and on the effect of stress (e.g. electric shock, insecticides) on transgenerational transmission in laboratory experiments. To our knowledge, our study is one of the first that investigates the differences of foraging behavior on a natural fish population, over two generations, to account for the effects of transgenerational epigenetic mechanisms.

Inheritance of morphological traits

Even though the correct classification rates of F1 (62%) and F2 (67 %) offspring are slightly lower from previous experimental studies on the same population (70 % to 74 %; Proulx and Magnan 2004; Sacotte and Magnan 2006), they are comparable to those found on adults (69 %; Dynes et al. 1999) and 1+ individuals (62 %; Proulx and Magnan 2004) in the field. Considering that the resource polymorphism of brook charr is subtle, it is not surprising to find lower differences in laboratory-raised young-of-the-year than their wild parent (70%). The traits that better discriminated ecotypes were not completely redundant among generations and were not always the same as those found in previous studies of the same system (reported above). Although different traits were the best discriminants for the three generations, all showed that the littoral ecotype had generally longer fins and longer heads than the pelagic ecotype, which is compatible with other studies in this system (Bourke et al. 1997; Dynes et al. 1999; Proulx and Magnan 2004; Bertrand et al. 2008; Rainville et al. 2021b).

The transmission of morphological characters used to identify the ecotypes in the field (pectoral fin and the dorsal fin base) to the F1 offspring was weak in the present study compared to the high degree of transmission observed for the same population by Sacotte and Magnan (2006). This could be due to the fact that morphological differences of littoral and wild pelagic parents were much less contrasting in the present study (especially for females; see Fig. 6) than those selected by Sacotte and Magnan (2006; their Fig. 3). Given that this transmission from the wild parents to the F1 laboratory-reared offspring is common in this population (Proulx and Magnan 2004; Sacotte and Magnan 2006; Pépino et al. 2018), the less contrasting differences in morphology of parents will inevitably

involve less contrasting differences in the F1 progeny, and the same should be true for the transmission of the same character from the F1 to the F2 generation, if any transmission should occur.

Finally, we found no differences in body shape of littoral and pelagic offspring from the F1 and F2 generations. Because both ecotypes were reared in the same conditions and that body shape is very plastic in this species (Peres-Neto and Magnan 2000; Proulx and Magnan 2004; Pépino et al. 2018), phenotypic plasticity could have contributed to homogenize the shape of both ecotypes. Previous reciprocal transplant experiments on brook charr, both in the laboratory and in the field, showed that the body shape of individuals transplanted to their reciprocal environment shifted toward the form expected in that environment and that fin length seemed to be less plastic than body shape (Proulx and Magnan 2004; Pépino et al. 2018). Other studies have found similar results regarding the morphological plasticity in other salmonids species. For example, Adams et al. (2003) found that early differential forced foraging behavior in arctic charr (*Salvelinus alpinus*) can lead to induced variation in head anatomy. It has been suggested that behavioral diversification precedes morphological diversification and foraging tactics used in early stages of development can influence future morphological traits (Wimberger 1994; Skúlason and Smith 1995; Adams et al. 2003; Kerckhove et al. 2006).

Conclusion

Recent studies suggested that epigenetic mechanisms work alongside genetic evolution to facilitate local adaptation and promote adaptive transgenerational plasticity (Jablonka and Raz 2009; Ryu et al. 2018; Anger et al. 2020). Epigenetic inheritance has

been suggested to contribute to adaptation via two distinct pathways (Shea et al. 2011; Klironomos et al. 2013). Stable epigenetic marks can emerge as epimutations that remain stable across generations regardless of the current environment (Klironomos et al. 2013), similar to DNA sequence-based variation. Alternatively, epigenetic marks can be induced by environmental cues, described as *detection-based* effects and are hypothesized to be a transgenerational mechanism of phenotypic plasticity (Shea et al. 2011; Anger et al. 2020). The latter should be the most plausible mechanism behind the subtle resource polymorphism observed in brook charr, since differences in foraging behavior only occurred on the first generation. If there are any epigenetic marks induced by environmental cues from the F0 individuals (originating from the wild) to the F1 individuals (raised in the laboratory and completely naïve toward natural prey), these may not have been inherited from the F1 to the F2 individuals, since both F1 and F2 were reared in homogenous laboratory conditions/cues. The strength of our experimental approach is that it allowed to demonstrate that the transmission of the selected foraging behaviors is not fixed genetically in this brook charr population, because if it has been the case, the F2 littoral offspring would have exhibited the same preferences for benthic prey than the F1 offspring, irrespective of the laboratory conditions. A further step to this study would be to investigate the processes involved in the observed transgenerational epigenetic inheritance of the selected foraging behavior to better understand the molecular basis underlying such a subtle resource polymorphism.

Acknowledgments

We thank Antoine Filion, Chantal Fournier, Benjamin Gosselin, Matteo Giacomazzo and Vickie Lapointe for their field and laboratory assistance. Bernard Angers and Dany Garant provided helpful comments on an earlier version of the paper. This project was supported by the Canada Research Chair program to P. Magnan. A. East was supported by a postgraduate fellowship from the Canada Research Chair program to P. Magnan.

References

- Adams DC, Otárola-Castillo E. 2013. geomorph: an R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. *Methods Ecol. Evol.* 4: 393–399.
- Adams CE, Woltering C, Alexander G. 2003. Epigenetic regulation of trophic morphology through feeding behaviour in Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Biol. J. Linn. Soc.* 78: 43–49.
- American Public Health Association. 1989. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 17th edn. Washington, DC: APHA Press.
- Angers B, Castonguay E, Massicote R. 2010. Environmentally induced phenotypes and DNA methylation: how to deal with unpredictable conditions until the next generation and after. *Mol. Biol.* 19: 1283–1295.
- Bautista NM, Burggren WW. 2019. Parental stressor exposure simultaneously conveys both adaptive and maladaptive larval phenotypes through epigenetic inheritance in the zebrafish (*Danio rerio*). *J. Exp. Biol.* 222: jeb208918. doi:10.1242/jeb.20
- Berger SL, Kouzarides T, Shiekhhattar R, Shilatifard A. 2009. An operational definition of epigenetics. *Genes Dev.* 23:781–783. doi: <http://dx.doi.org/10.1101/gad.1787609>.

- Bertrand M, Marcogliese DJ, Magnan P. 2008. Trophic polymorphism in brook charr revealed by diet, parasites and morphometrics. *J. Fish Biol.* 72: 555–572. doi: 10.1111/j.1095-8649.2007.01720.x
- Best C, Ikert H, Kostyniuk DJ, Craig PM, Navarro-Martin L, Marandel L, Mennigen JA. 2018. Epigenetics in teleost fish: From molecular mechanisms to physiological phenotypes. *Comp. Biochem. Physiol. B: Biochem. Mol. Biol.* 224: 210–244.
- Bossdorf O, Zhang Y. 2011. A truly ecological epigenetics study. *Mol. Ecol.* 20: 1572–1574.
- Bourke P, Magnan P, Rodriguez MA. 1997. Individual variations in habitat use and morphology in brook charr. *J. Fish Biol.* 51: 783–794.
- Bourke P, Magnan P, Rodriguez MA. 1999. Phenotypic responses of lacustrine brook charr in relation to the intensity of interspecific competition. *Evol. Ecol.* 13: 19–31.
- Borcard D, Gillet F, Legendre P. 2011. Numerical ecology with R. New York, NY: Springer.
- Collyer ML, Adams DC. 2018. RRPP: An R package for fitting linear models to high-dimensional data using residual randomization. *Methods Ecol. Evol.* 9:1772–1779.
- Collyer ML, Adams DC. 2019. RRPP: Linear Model Evaluation with Randomized Residuals in a Permutation Procedure. <https://cran.r-project.org/web/packages/RRPP>
- Dachin E, Charmantier A, Champagne FA, Mesdoudi A, Pujol B, Blanchet S. 2011. Beyond DNA: integrating inclusive inheritance into an extended theory of evolution. *Nat. Rev. Genet.* 12: 475–486.
- Dynes J, Magnan P, Bernatchez L, Rodriguez MA. 1999. Genetic and morphological variation between two forms of lacustrine brook charr. *J. Fish Biol.* 54: 955–972.

- Fleming IA, Jonsson B, Gross MR. 1994. Phenotypic divergence of sea-ranched, farmed, and wild salmon. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 51: 2808–2824.
- Jablonka E, Raz G. 2009. Transgenerational epigenetic inheritance: prevalence, mechanisms, and implications for the study of heredity and evolution. *Q. Rev. Biol.* 84: 131–176.
- Jonsson B, Jonsson N. 2001. Polymorphism and speciation in Arctic charr. *J. Fish Biol.* 58: 605–638.
- Kerckhove D, McLaughlin RL, Noakes LGD. 2006. Ecological mechanisms favouring behavioural diversification in the absence of morphological diversification: a theoretical examination using brook charr (*Salvelinus fontinalis*). *J. Anim. Ecol.* 75: 506–517.
- Klironomos FD, Berg J, Collins S. 2013. How epigenetic mutations can affect genetic evolution: model and mechanism. *BioEssays*. 35: 571–578. 611–612.
- Kovalchuk I. 2012. Transgenerational epigenetic inheritance in animals. *Frontiers. Genet.* 3. doi: 10.3389/fgene.2012.00076
- Lance RF, Kennedy ML, Leberg PL. 2000. Classification bias in discriminant function analyses used to evaluate putatively different taxa. *J. Mammal.* 81: 245–249.
- Ledón-Rettig CC, Richards CL, Martin LB. 2013. Epigenetics for behavioral ecologists. *Behav. Ecol.* 24: 311–324.
- Marchand F, Magnan P, Boisclair D. 2003. Differential time budgets of two forms of juvenile brook charr in the open-water zone. *J. Fish Biol.* 63: 687–698.
- Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation Québec (MAPAQ). 1990. Atelier de travail sur la génétique des salmonidés d'élevage au Québec. Cahier de conférences. Québec: Gouvernement du Québec.

- Olden JD, Jackson DA, Peres-Neto PR. 2002. Predictive models of fish species distributions: A note on proper validation and chance predictions. *Trans. Am. Fish. Soc.* 131: 329–336.
- Pépino M, Magnan P, Proulx R. 2018. Field evidence for a rapid adaptive plastic response in morphology and growth of littoral and pelagic brook charr: A reciprocal transplant experiment. *Funct. Ecol.* 32: 161-170.
- Peres-Neto PR, Magnan P. 2004. The influence of swimming demand on phenotypic plasticity and morphological integration: A comparison of two polymorphic charr species. *Oecologia.* 140: 36–45.
- Perez MF, Lehner B. 2019. Intergenerational and transgenerational epigenetic inheritance in animals. *Nat. Cell. Biol.* 21: 143–151.
- Pfennig DW, Wund MA, Snell-Rood EC, Cruickshank T, Schlichting CD, Moczek AP. 2010. Phenotypic plasticity's impacts on diversification and speciation. *Trends Ecol. Evol.* 25: 459-467.
- Pigliucci, M, Murren, CJ, Schlichting CD. 2006. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *J. Exp. Biol.* 209: 2362–2367. <https://doi.org/10.1242/jeb.02070>
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar DR Core Team. 2020. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-150, <https://CRAN.R-project.org/package=nlm>
- Piper RG, McElwain IB, Orme LE, McCraren JP, Fowler LG, Leonard JR. 1982. *Fish Hatchery Management*. Washington, DC: US Department of the Interior, Fish, and Wildlife Service.

- Proulx R, Magnan P. 2002. Physiological performance of two forms of lacustrine brook charr, *Salvelinus fontinalis*, in the open-water habitat. Environ. Biol. Fish. 64: 127–136.
- Proulx R, Magnan P. 2004. Contribution of phenotypic plasticity and heredity to the Trophic polymorphism of lacustrine brook charr (*Salvelinus fontinalis* M.). Evol. Ecol. Res. 6: 503–522.
- Rainville V, Filion A, Lussier I, Pépino M, Magnan P. 2021a. Does ecological release from distantly related species affect phenotypic divergence in brook charr? Oecologia 195:77–92.
- Rainville V, Pépino M, Magnan P. 2021b. Parallel evolution of morphological traits and body shape in littoral and pelagic brook charr along a gradient of interspecific competition. Oecologia (in revision).
- Reist JD. 1986. An empirical evaluation of coefficients used in residual and allometric adjustment of size covariation. Can. J. Zool. 64: 1363–1368.
- Robinson BW, Wilson DS. 1994. Character release and displacement in fishes: a neglected literature. Am. Nat. 144: 596–627.
- Rohlf FJ. 2005a. tpsDIG2. Program for digitizing images by thin-plate splines Windows, version 2 [online]. Department of Ecology & Evolution, State University of New York, Stony Brook. Available by anonymous ftp from <http://life.bio.sunysb.edu/morph/morph.html>.
- Rouleau S, Glemet H, Magnan P. 2010. Effects of morphology on swimming performance in wild and laboratory crosses of brook trout ecotypes. Funct. Ecol. 24: 310–321.
- Ryu T, Veilleux HD, Donelson JM, Munday PL, Ravasi T. 2018. The epigenetic landscape of transgenerational acclimation to ocean warming. Nat. Clim. Change. 8: 504–509.

- Sacotte S, Magnan P. 2006. Inherited differences in foraging behaviour in offspring of two forms of lacustrine brook charr. *Evol. Ecol. Res.* 8: 843–857.
- Schulter D. 2000. *The Ecology of Adaptive Radiation*. Oxford University Press. New York.
- Schneider RF, Meyer A. 2017. How plasticity, genetic assimilation and cryptic genetic variation may contribute to adaptive radiations. *Mol. Ecol.* 26: 330–350 doi: 10.1111/mec.13880.
- Shea N, Pen I, Uller T. 2011. Three epigenetic information channels and their different roles in evolution. *J. Evol. Biol.* 24: 1178–1187.
- Skinner MK. 2008. What is an epigenetic transgenerational phenotype? F3 or F2. *Reprod. Toxicol.* 25: 2–6.
- Skúlason S, Smith TB. 1995. Resource polymorphism in vertebrates. *Trends Ecol. Evol.* 10: 366–370.
- Skúlason S, Parsons KJ, Svanbäck R, Räsänen K, Ferguson MM, Adams CE, Amundsen PA, Bartels P, Bean CW, Boughman JW, Englund G, Guðbrandsson J, Hooker OE, Hudson AG, Kahilainen KK, Knudsen R, Kristjánsson BK, Leblanc CAL, Jónsson Z, Öhlund G, Smith C, Snorrason SS. 2019. A way forward with eco evo devo: an extended theory of resource polymorphism with postglacial fishes as model systems. *Biol. Rev.* 94: 1786–1808. doi: 10.1111/brv.12534
- Smith G, Ritchie MG. 2013. How might epigenetics contribute to ecological speciation? *Curr. Zool.* 59: 686–696.
- Smith TB, Skúlason S. 1996. Evolutionary significance of resource polymorphism in fishes, amphibians and birds. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 27: 111–133.

- Skvortsova K, Iovino N, Bogdanovic O. 2018. Functions and mechanisms of epigenetic inheritance in animals. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 19: 774–790.
- Venables WN, Ripley BD. 2002. *Modern Applied Statistics with S*. Fourth Edition. Springer, New York. ISB 0-387-95457-0
- Whitman DW, Agrawal AA. 2009. What is phenotypic plasticity and why is it important? In: Whitman DW, Ananthakrishnan TN, editors. *Phenotypic Plasticity of Insects: Mechanisms and consequences*. Boca Raton, FL: CRC. p.1-63.
- Wimberger PH. 1994. Trophic polymorphism, plasticity, and speciation in vertebrates. In: Stouder DJ, Fresh KL, Feller RJ, editors. *Theory and Application in Fish Feeding Ecology*. Columbia, SC: University of South Carolina Press. p. 19-43.
- Zuur AF, Ieno EN, Smith GM. 2007. *Analysing ecological data*. New York, NY: Springer.

Figure captions

Fig. 1. Locations of the 30 two-dimensional landmarks (a) and 13 morphological characters (b) measured on the left side of brook charr. PFL: pectoral fin length; CPH: caudal peduncle height; HL: head length; MHL: mid head length; TSE: tip of snout to eye; DFB: dorsal fin base length; PFH: pelvic fin length; PFB: pelvic base length; AFB: anal fin base length; PCT: posterior cranium to tip; MBL: maxillary bone length; BD: body depth; MW: mouth width; TL: total length

Fig. 2. Box plots of the number of benthic (left panel) and planktonic (right panel) prey consumed per day for littoral (red) and pelagic (blue) ecotypes, of both F1 (upper panel) and F2 (lower panel) generations. Lines represent logistic curves fitted for littoral (red) and pelagic (blue) ecotype. Curves with significant effect ($P < 0.05$) of the ecotype are in solid lines and non-significant effect ($P > 0.05$) are in dotted lines.

Fig. 3. Box plots of the number of benthic and zooplanktonic prey consumed on the first feeding day (Day 1, 2, 3, 4 or 5) by the young-of-the-year brook charr for littoral (red) and pelagic (blue) ecotypes, for both F1 (upper panel) and F2 (lower panel) generations.

Fig. 4. Left panel: Density plots of the discriminant function scores for the littoral (red) and pelagic (blue) ecotypes per generation (F0, F1 and F2). **Right panel:** Canonical correlation coefficients for each generation

Fig. 5. Deformation grids for F0 (male and female), F1 and F2 generations, mean consensus shape (F0 are compared to the mean of each sex separately) in grey dots versus the mean shape of the littoral (left) and pelagic (right) ecotypes in black dots.

Fig. 6. Size-adjusted pectoral and dorsal fin lengths for each adult male (left), and female (right) brook charr, and for the F0 and F1 parents and their F1 and F2 young of the year (YOY). Littoral families: black circles; pelagic families: white circles.

Tables

Table 1. Prey preference of young of the year littoral and pelagic ecotypes for both F1 and F2 generations during first feeding day. Preference (benthic prey consumed – planktonic prey consumed) with 95% confidence interval in parentheses

Ecotype	Generation	
	F1	F2
Littoral	4.58 [3.39; 5.77]	6.54 [5.60; 7.47]
Pelagic	1.56 [0.37; 2.75]	7.00 [6.05; 7.95]

Figure 1 consists of two photographs, A and B, showing the lateral view of a rainbow trout (A) and a brown trout (B). Both fish are held in a white container with a black background. Red dots and lines indicate landmarks and measurements used for geometric morphometric analysis. In image A, landmarks are numbered 1 through 25. In image B, anatomical features are labeled with red text: PET (Preopercular Tip), MGL (Maxillary Gape Length), HL (Head Length), PFL (Pectoral Fin Length), PFB (Pectoral Fin Base), DFB (Dorsal Fin Base), BD (Body Depth), AFB (Anal Fin Base), CPW (Caudal Peduncle Width), and TL (Total Length). A red line is drawn along the bottom of the fish in image B to indicate the total length measurement.

Fig. 2

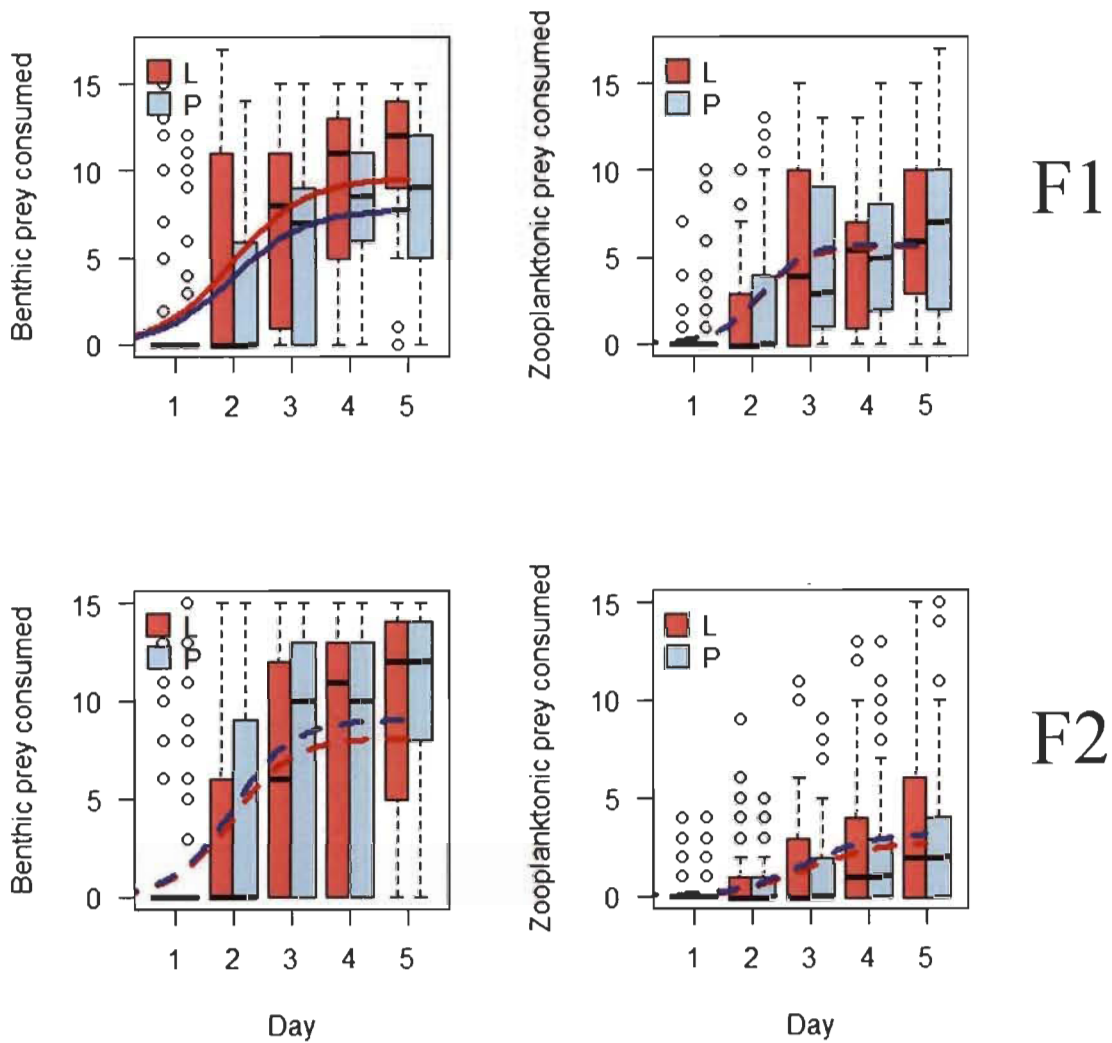


Fig. 3

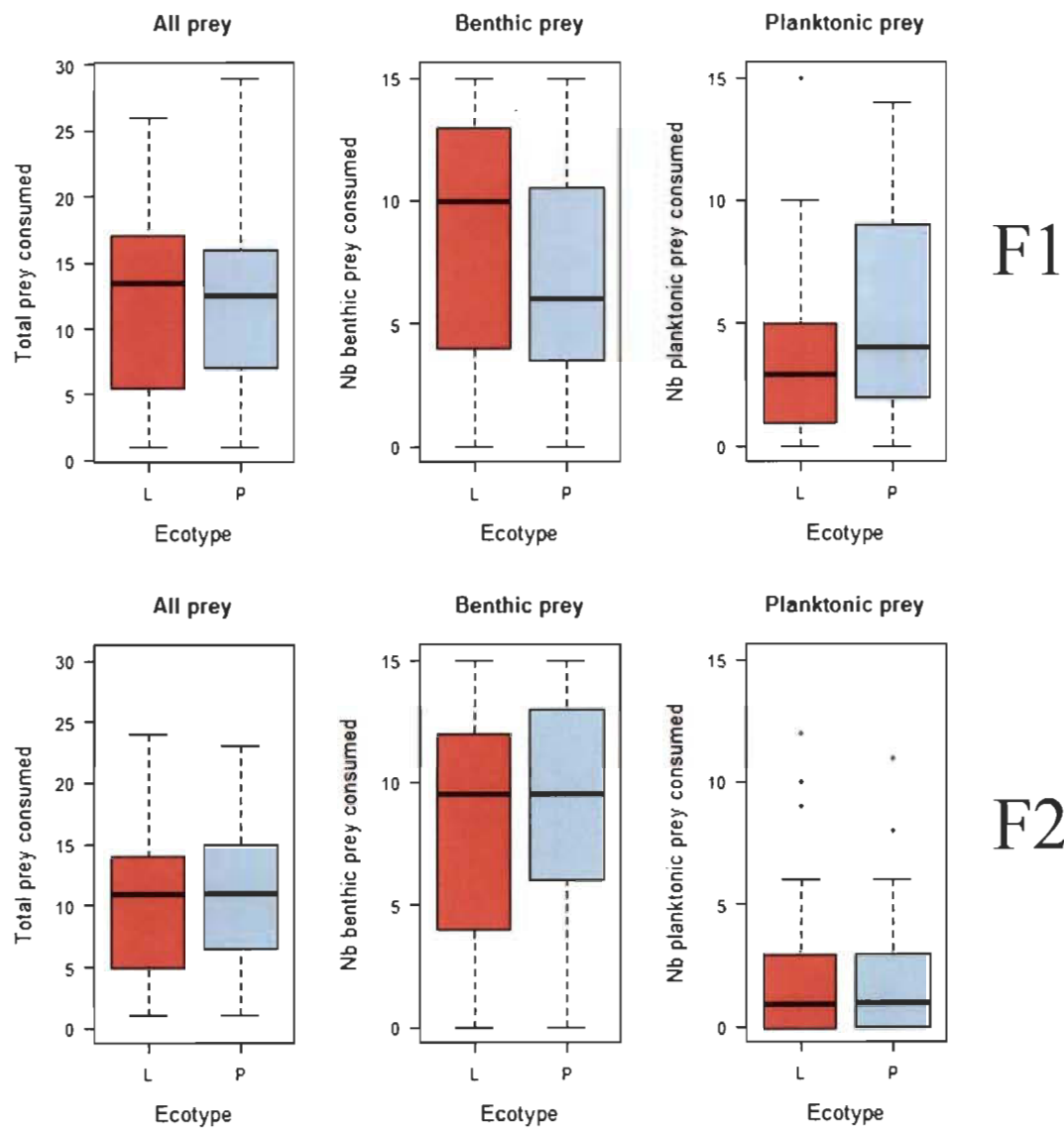


Fig. 4

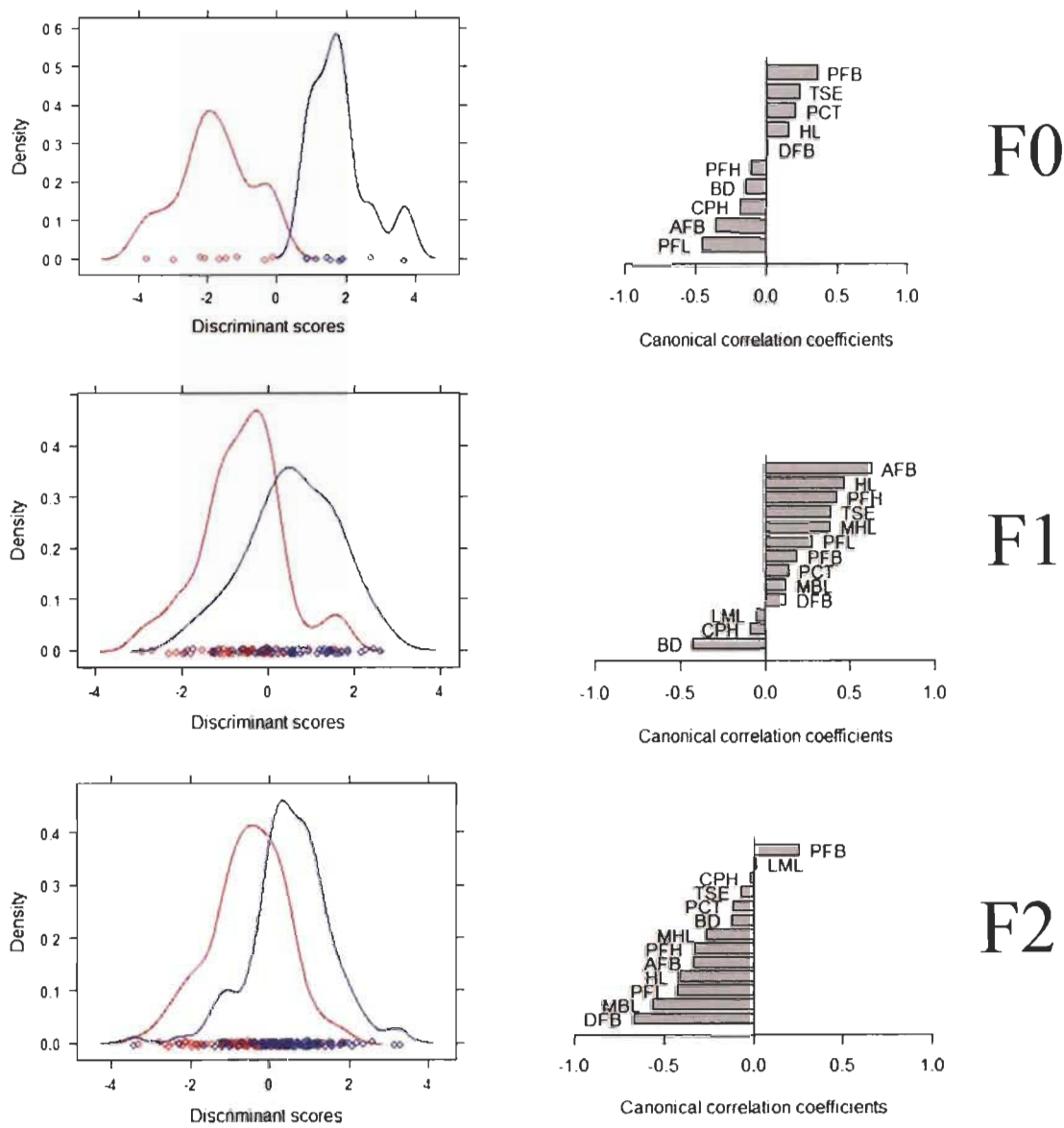


Fig. 5

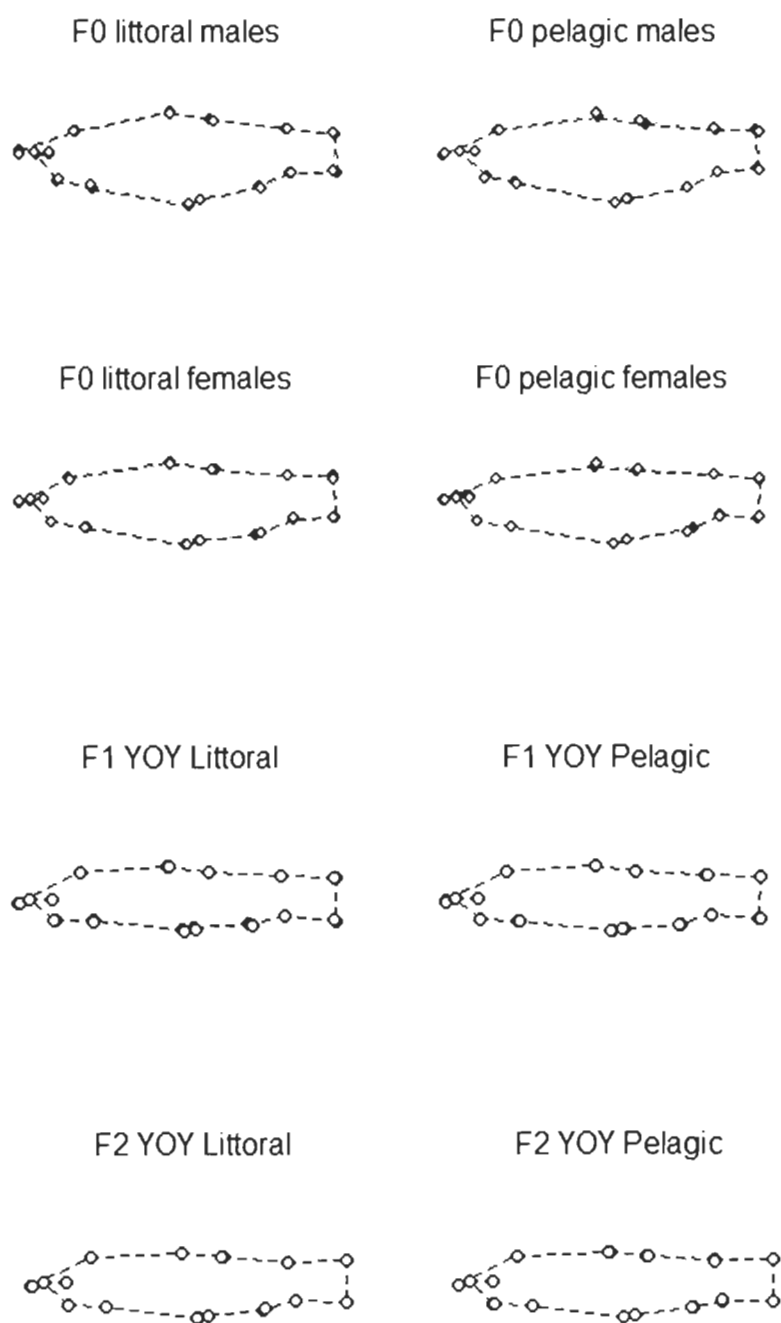
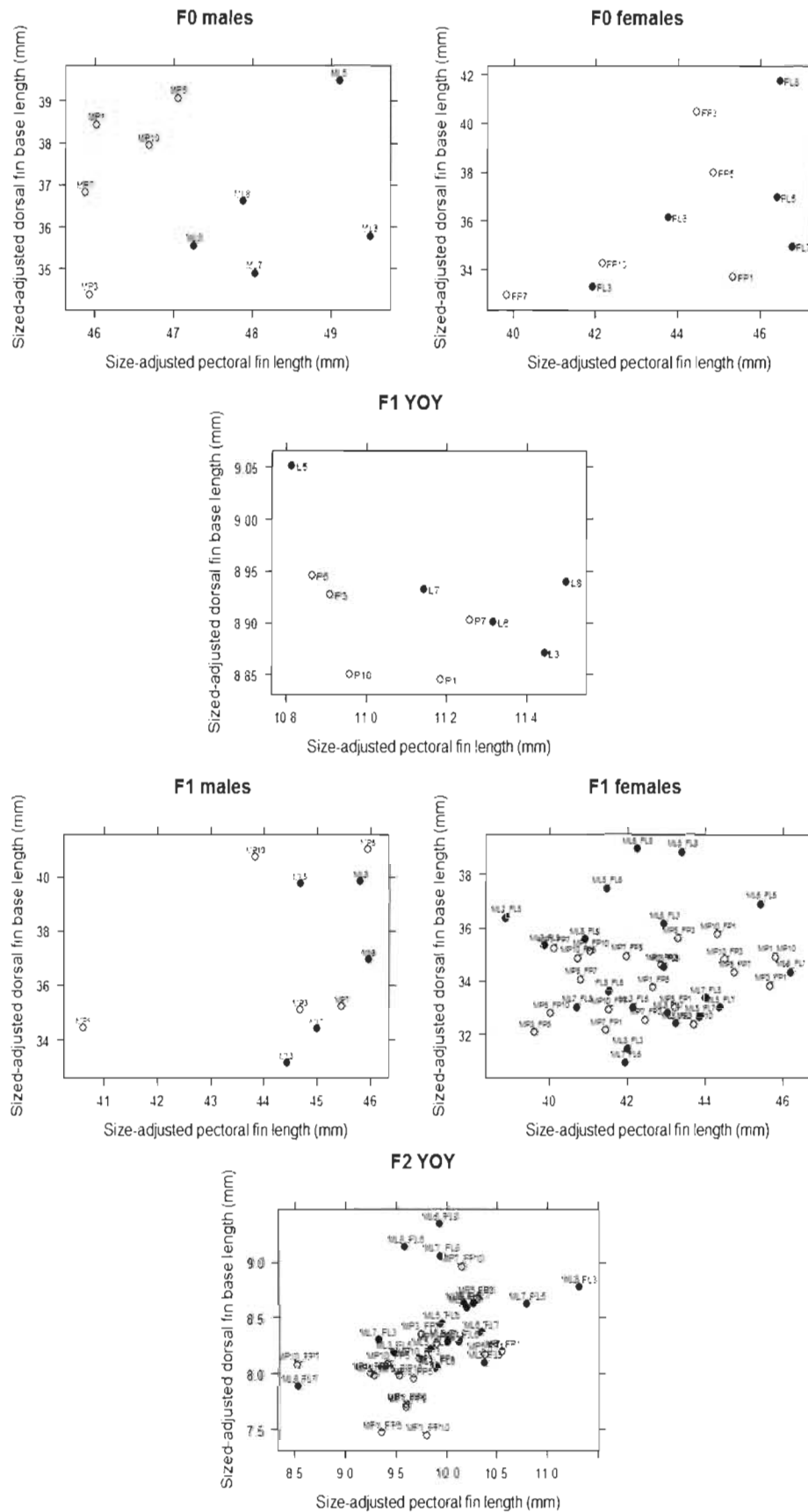
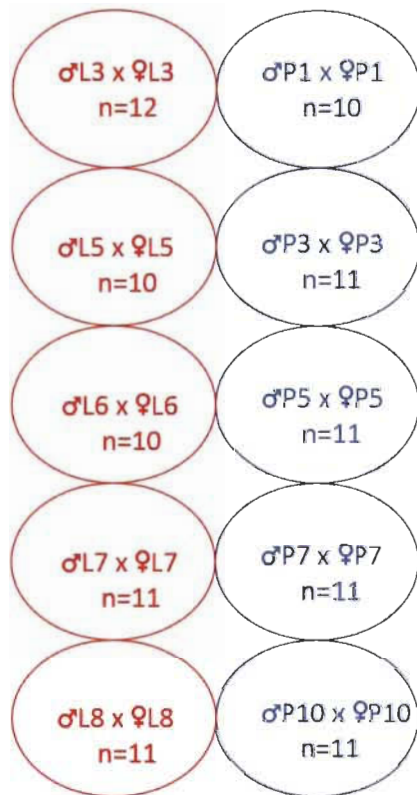


Fig. 6



Supplementary material

F1



5 littoral families:
54 individuals tested

5 pelagic families:
54 individuals tested

Figure S1. Fertilization plan used to produce the F1 young of the year families from the F0 wild parents. The sexual products of five littoral and five pelagic families (one male and one female per family; full siblings) were used. For each family, the sample size (n) refers to the number of F1 young of the year used in foraging experiments and morphological analyses.

F2

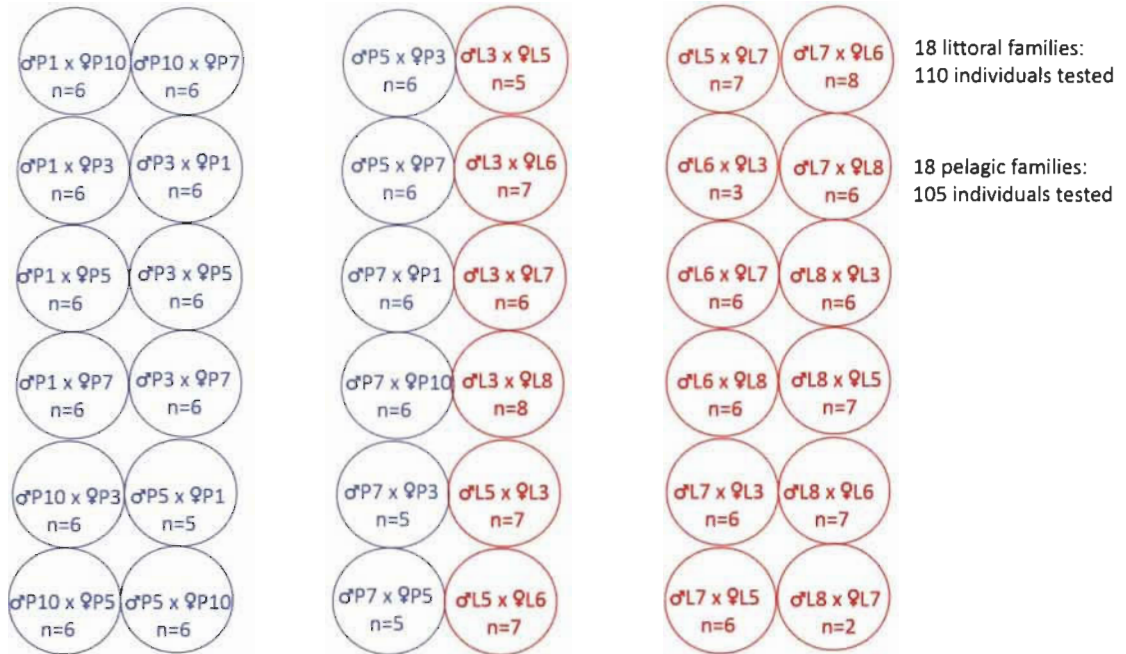


Figure S2. Fertilization plans used to produce the F2 young of the year families from the F1 laboratory-raised parents. One F1 male fertilized the eggs of four F1 females from other families of the same ecotype. Each female was used in only one family. The families were produced with a total of 10 males and 36 females. For each family, the sample size (n) refers to the number of F2 young of the year used in foraging experiments and morphological analyses.

Table S1. Results of the analysis of variance using residual randomization in the permutation procedures (RRPP; 1000 permutations) to assess statistical hypotheses describing patterns of shape variation and covariation for Procrustes shape variables of littoral and pelagic brook charr ecotypes (ECO). The effect size (Z) is based on the sum of squares (SS) distributions. We used type I SS and cross-product computations. Output for the F0, F1 and F2 models are shown.

Model	Df	SS	MS	R^2	F	Z	p
F0							
ECO	1	0.0004942	0.0004942	0.02869	0.6406	-0.9623	0.826
SEX	1	0.0043902	0.0043902	0.25484	5.6911	3.1647	0.001
Residuals	16	0.123425	0.0007714	0.71647			
Total	18	0.0172268					
F1							
ECO	1	0.001627	0.0016265	0.02862	1.7315	1.3597	0.086
ECO:FAM	8	0.007515	0.0009394	0.13221	1.9299	4.133	0.001
Residuals	98	0.0477	0.0004867	0.83918			
Total	107	0.056842					
F2							
ECO	1	0.00238	0.0023837	0.00721	1		0.501
ECO:FAM	34	0.06156	0.0018106	0.18616	1.215	1.6217	0.026
Residuals	179	0.26675	0.0014903	0.80664			
Total	214	0.3307					

Chapitre III

Conclusion générale

3.1 Contextualisation

Les mécanismes épigénétiques, soit la capacité d'un génotype de produire différents phénotypes sans changer les structures de l'ADN en réponse à différents stimuli environnementaux, sont de plus en plus étudiés (Anger et al. 2010, 2020). Cependant, peu d'études portant sur ces mécanismes ont été réalisées sur des populations naturelles (Bossdorf and Chang, 2011). Il est intéressant d'étudier ces mécanismes chez des populations affichant un polymorphisme associé aux ressources puisqu'ils peuvent accélérer les processus de spéciation. L'objectif de ce projet de recherche était de distinguer les effets épigénétiques et des effets génétiques dans la transmission de certains traits de la morphologie et du comportement alimentaire des formes littorale et pélagique de l'omble de fontaine jusqu'à la génération F2.

3.2. Principaux résultats

Nos résultats montrent que pour la première génération (F1) élevée en laboratoire, en conditions contrôlées, les individus littoraux ont consommé significativement plus de proies benthiques que les individus pélagiques durant les expériences. Nous n'avons pas trouvé de différence au niveau de la consommation de zooplancton entre les deux écotypes. De plus, lors de leur première alimentation, lorsque les poissons faisaient un choix complètement naïf entre les deux types de proies (n'ayant jamais été en contact avec ces dernières), les individus littoraux ont affiché une plus grande préférence pour les proies

benthiques par rapport aux individus pélagiques, même si ces derniers ont eu aussi préféré les proies benthiques au zooplancton. Il est remarquable que ces résultats aient été les mêmes que ceux de Sacotte et Magnan (2006), et ce, avec un protocole quelque peu différent. Pour la seconde génération (F2), issues d'une reproduction des individus F1 élevés en laboratoire jusqu'à maturité, nous n'avons trouvé aucune différence entre les individus littoraux et pélagiques en ce qui concerne le nombre de proies benthiques et pélagiques consommées. De plus, lors de la première alimentation des individus de la seconde génération, les deux écotypes n'ont affiché aucune différence significative dans leurs préférences, bien qu'ils aient consommé les proies benthiques en plus grande quantité que ceux de la première génération. Ce dernier résultat suggère un choix pour les proies plus grandes chez les individus n'ayant reçu aucun signal du milieu naturel provenant de leur parent.

En ce qui concerne la morphologie, les deux écotypes ont pu être identifiés par les analyses discriminantes, et ce, pour les trois générations étudiées (F0, F1 et F2). Cependant les traits morphologiques qui ont permis de mieux séparer les formes n'ont pas été les mêmes pour les trois générations. Il est cependant bien connu que les analyses discriminantes vont souvent s'avérer significatives même si les différences ne sont pas biologiquement interprétables, en particulier lorsque le nombre de traits analysé est élevé, comme dans notre étude (Mitteroecker and Bookstein 2011). Par ailleurs, les individus littoraux ont généralement affiché des nageoires plus longues que les individus pélagiques ce qui est en accord avec les travaux antérieurs réalisés sur cette population (Dynes et al. 1999; Proulx and Magnan 2002; Proulx and Magnan 2004; Sacotte and Magnan 2006) et les prédictions de la morphologie fonctionnelle. La transmission des traits utilisés pour

identifier les écotypes sur le terrain (longueur de la nageoire pectorale et base de la nageoire dorsale) aux individus F1 a été faible dans la présente étude comparativement au haut degré de transmission observé par Sacotte et Magnan (2006) sur la même population. Ceci pourrait être dû au fait que les différences morphologiques des parents littoraux et pélagiques F0 sauvages ont été moins contrastantes dans la présente étude. En admettant que la transmission de certains caractères des parents F0 sauvages à la progéniture F1 élevée en laboratoire soit commune chez cette population (Proulx and Magnan 2004; Sacotte and Magnan 2006; Pépino et al. 2018), une morphologie moins contrastante des parents F0 amènera inévitablement une morphologie moins contrastante à la progéniture F1 et ceci devrait être vraie pour la transmission de la F1 à la F2, si transmission il devait y avoir.

En ce qui trait à la forme des individus, nous n'avons pas trouvé de différence entre les écotypes littoraux et pélagiques. Des expériences réciproques (angl. : reciprocal transplant experiments) chez les deux formes de l'omble de fontaine, tant au laboratoire que sur le terrain, ont montré que la forme du corps des individus transférés dans leur environnement réciproque (individus littoraux transférés dans les conditions pélagiques et vice versa) s'est transformée vers la forme attendue dans cet environnement et que la longueur des nageoires s'est avérée moins plastique que la forme du corps (Proulx and Magnan 2004; Pépino et al. 2018). D'autres études ont trouvé des résultats similaires en ce qui concerne la plasticité morphologique chez d'autres espèces de salmonidés. Par exemple, Adams et al. (2003) ont trouvé qu'imposer un comportement alimentaire différentiel chez l'omble chevalier peut induire des variations anatomiques au niveau de la tête. Il a été suggéré que la diversification comportementale est plus plastique que la

diversification morphologique et qu'elle précéderait cette dernière (Wimberger 1994; Skúlason and Smith 1995; Adams et al. 2003). Dans notre étude nous avons seulement trouvé des différences comportementales entre les deux écotypes (littoral et pélagique) au niveau de la première génération (F1), ce qui tend à supporter cette dernière hypothèse.

3.3 Conclusions et perspectives futures

Les effets épigénétiques ont été peu étudiés dans des populations naturelles (Bossdorf and Chang 2011). Cette étude basée sur un plan d'expérience multi générationnel a permis de vérifier si le maintien du polymorphisme associé aux ressources chez une population sauvage d'omble de fontaine est dû à des mécanismes purement génétiques ou à des mécanismes épigénétiques. Nos résultats montrent que les différences au niveau comportemental ont été maintenues à la première génération, mais qu'elles ont été perdues au niveau de la seconde génération. Ceci suggère que des mécanismes épigénétiques sont en jeux dans le maintien de ce polymorphisme associé aux ressources. Il a été suggéré que la transmission épigénétique peut avoir une valeur adaptative via deux voies distinctes (Shea et al. 2011; Klironomos et al. 2013). Des marques épigénétiques stables peuvent émerger en tant qu'épimutations qui restent stables au cours des générations, indépendamment de l'environnement (Klironomos et al. 2013), ce qui est semblable à la variation des séquences d'ADN. D'autre part, les marques épigénétiques peuvent être induites par des stimuli environnementaux, décrites comme des effets *basés sur la détection* et sont interprétées comme étant un mécanisme transgénérationnel de plasticité phénotypique (Shea et al. 2011). Cette dernière voie serait la plus plausible en tant que mécanisme sous-jacent au polymorphisme subtil observé chez l'omble de fontaine, puisque

les différences au niveau du comportement alimentaire entre les deux écotypes ont seulement été observées lors de la première génération. Si des marques épigénétiques sont héritées par des mécanismes basés sur la détection des stimuli environnementaux des individus F0 (qui ont vécu leur vie entière dans l'habitat naturel) aux individus de la F1 (qui ont vécu leur vie entière en laboratoire), celles-ci n'ont peut-être pas été transmises des individus de la génération F1 aux individus de la génération F2, puisque les individus F1 ont été élevés jusqu'à maturité sexuelle dans des conditions de laboratoire homogène. En effet, les marques épigénétiques induites par l'environnement ont vraisemblablement été similaires pour les deux écotypes des générations F1 et F2 puisqu'ils ont été soumis au même environnement, contrairement aux individus littoraux et pélagiques de la génération F0. Ces derniers ont évolué dans des habitats différents et exploité des ressources différentes durant toute leur vie, et donc, ont été exposés à des stimuli environnementaux complètement différents que ceux élevés dans les conditions identiques et contrôlées du laboratoire. À un niveau plus large, les résultats de notre étude suggèrent que le polymorphisme associé aux ressources chez l'omble de fontaine serait basé sur une interaction « environnement x génétique » durant le développement des individus (due à une plasticité phénotypique intragénération chez les F0), renforcé par une transmission épigénétique transgénérationnelle (due à une exposition des parents à des conditions environnementales qui a une influence sur la réponse phénotypique de la génération suivante, F1).

Une perspective intéressante à ce projet serait d'étudier les processus impliqués dans la transmission épigénétique transgénérationnelle observée dans les comportements

d'alimentation sélectionnés afin de mieux comprendre la base moléculaire sous-jacente au polymorphisme subtil associé aux ressources chez l'omble de fontaine.

Références bibliographiques

- Adams CE, Huntingford FA. 2002. Inherited differences in head allometry in polymorphic Arctic charr from Loch Rannoch, Scotland. *J. Fish Biol.* 60: 515–520.
- Adams CE, Woltering C, Alexander G. 2003. Epigenetic regulation of trophic morphology through feeding behaviour in Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Biol. J. Linn. Soc.* 78: 43–49.
- Angers B, Castonguay E, Massicote R. 2010. Environmentally induced phenotypes and DNA methylation: how to deal with unpredictable conditions until the next generation and after. *J. Mol. Biol.* 19: 1283-1295.
- Angers B, Perez M, Menicucci T, Leung C. 2020. Sources of epigenetic variation and their applications in natural populations. *Evol. Appl.* 13: 1262-1278. doi: 10.1111/eva.12946
- Anreiter I, Kramer JM, Sokolowski MB. 2017. Epigenetic effects on *Drosophila* foraging behavior. *PNAS.* 114: 12518-12523.
- Bell DL, Galloway LF. 2007. Plasticity to neighbour shade: Fitness consequences and allometry. *Funct Ecol.* 21: 1146–1153. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01327.x>
- Bird A. 2002. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev.* 16: 6–21.
- Bird A. 2007. Perceptions of epigenetics. *Nat.* 447: 396–398.
- Bodaly RA, Clayton JW, Lindsey CC, Vuorinen, J. 1992. Evolution of the lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) in North America during the Pleistocene: genetic differentiation between sympatric populations. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 49: 769-79.
- Berger SL, Kouzarides T, Shiekhhattar R, Shilatifard A. 2009. An operational definition of epigenetics. *Genes Dev.* 23: 781–783. <http://dx.doi.org/10.1101/gad.1787609>.

- Best C, H Ikert, Kostyniuk DJ, Craig PM, Navarro-Martin L, Marandel L, Mennigen JA. 2018. Epigenetics in teleost fish: From molecular mechanisms to physiological phenotypes. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 224: 210–244.
- Bossdorf O, Zhang Y. 2011. A truly ecological epigenetics study. *Mol. Ecol.* 20: 1572–1574.
- Bourke P, Magnan P, Rodriguez MA. 1997. Individual variations in habitat use and morphology in brook charr. *J. Fish Biol.* 51: 783–794.
- Bourke P, Magnan P, Rodriguez MA. 1999. Phenotypic responses of lacustrine brook charr in relation to the intensity of interspecific competition. *Evol. Ecol.* 13: 19–31.
- Champagne FA, Meaney MJ. 2006. Stress during gestation alters postpartum maternal care and the development of the offspring in a rodent model. *Biol. Psychiatry.* 59: 1227–1235.
- Cresko WA, Baker JA. 1995. Two morphotypes of lacustrine threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, in Benka Lake, Alaska. *Environ. Biol. Fish.* 45 : 343–350.
- Dachin E, Charmantier A, Champagne FA, Mesdoudi A, Pujol B, Blanchet S. 2011. Beyond DNA: integrating inclusive inheritance into an extended theory of evolution. *Nat. Rev. Genet.* 12: 475–486.
- Dias BG, Ressler KJ. 2014. Parental olfactory experience influences behavior and neural structure in subsequent generations. *Nat. Neurosci.* 17: 89–96.
- Duncan EJ, Gluckman PD, Dearden PK. 2014. Epigenetics, plasticity, and evolution: How do we link epigenetic change to phenotype? *J. Exp. Zool. B. Mol. Dev. Evol.* 322: 208–220. <https://doi.org/10.1002/jez.b.22571>

- Dynes J, Magnan P, Bernatchez L, Rodriguez, MA. 1999. Genetic and morphological variation between two forms of lacustrine brook charr. *J. Fish Biol.* 54: 955–972.
- Echelle AA, Kornfield I. 1984. *Evolution of Fish Species Flocks*. Orono: Univ. Maine Press
- Ehlinge TS, Wilson DS. 1988. Complex foraging polymorphism in bluegill sunfish. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 1878-1882.
- Falconer DS, Mackay TFC. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*, Ed 4. Longmans Green, Harlow, Essex, UK.
- Ferguson J, Taggart JB. 1991. Genetic differentiation among the sympatric brown trout (*Salmo trutta*) populations of Lough Melvin, Ireland. *Biol. J. Linn. Soc.* 43: 221-37.
- Foote CJ, Wood CC, Withler RE. 1989. Biochemical genetic comparison of sockeye and kokanee, the anadromous and non-anadromous forms of *Oncorhynchus nerka*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46:149-58.
- Galloway LF, Etterson JR. 2007. Transgenerational Plasticity Is Adaptive in the Wild. *Science*. 318: 1134-1136
- Gatz AJ Jr. 1979. Community organization in fishes as indicated by morphological features. *Ecology*. 60: 711–718.
- Griffiths D. 1994. The size structure of lacustrine arctic charr (Pisces: *Salmonidae*) populations. *Biol. J. Linn. Soc.* 43: 221-237.
- Gudkov PK. 1994. Sympatric charr of the genus *Salvelinus* from lakes of the Chukotsk Peninsula. *J. Ichthyology*. 34: 48-59.
- Hales CN, Barker DJ. 2001. The thrifty phenotype hypothesis. *Br. Med. Bull.* 60: 5–20.

- Hindar K, Jonsson B. 1982. Habitat and food segregation of dwarf and normal arctic charr (*Salvelinus alpinus*) from Vangsvatnet Lake, western Norway. Can. J. Fish. Aquatic. Sci. 39: 1030-1045.
- Jonsson B, Jonsson N. 2001. Polymorphism and speciation in Arctic charr. J. Fish Biol. 58: 605–638.
- Klironomos FD, Berg J, Collins S. 2013. How epigenetic mutations can affect genetic evolution: model and mechanism. Int J Bioassays. 35: 571-578.
- Malmquist HJ. 1992. Phenotype-specific feeding behaviour of two arctic charr *Salvelinus alpinus* morphs. Oecologia. 92: 354-61.
- Malmquist HJ, Snorrason SS, Skulason S, Jonsson B, Sandlund OT, Jonasson PM. 1992. Diet differentiation in polymorphic arctic charr in Thingvallavatn, Iceland. J. Anim. Ecol. 61: 21-35.
- Marchand F, Magnan P, Boisclair D. 2003. Differential time budgets of two forms of juvenile brook charr in the open-water zone. J. Fish Biol. 63: 687–698.
- McKinnon JS, Rundle HD. 2002. Speciation in nature: the threespine stickleback model systems. Trends Ecol Evol. 17: 480–488.
- McPhail JD. 1994. Speciation and the evolution of reproductive isolation in sticklebacks (*Gasterosteus*) of south-western British Columbia. In The Evolutionary Biology of the Threespine Stickleback, ed. MA Bell, SA Foster, pp. 399- 437. Oxford: Oxford Univ. Press
- McVeigh HP, Hynes RA, Ferguson A. 1995. Mitochondrial DNA differentiation of sympatric populations of brown trout, *Salmo trutta* L., from Lough Melvin, Ireland. Can. J. Fish. Aquatic. Sci. 52: 1617-22.

- Mitteroecker P, Bookstein F. 2011 Linear Discrimination, Ordination, and the Visualization of Selection Gradients in Modern Morphometrics. *Evol. Biol.* 38: 100–114. doi 10.1007/s11692-011-9109-8
- Murrell A, Rakyan VK, Beck S. 2005. From genome to epigenome. *Hum. Mol. Genet.* 14: 3–10. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi110>
- Norton SF. 1991. Capture success and diet of cottid fishes: the role of predator morphology and attack kinematics. *Ecology.* 72: 1807–1819.
- Pépino M, Magnan P, Proulx R. 2018. Field evidence for a rapid adaptive plastic response in morphology and growth of littoral and pelagic brook charr: A reciprocal transplant experiment. *Funct. Ecol.* 32: 161-170.
- Peres-Neto PR, Magnan P. 2004. The influence of swimming demand on phenotypic plasticity and morphological integration: A comparison of two polymorphic charr species. *Oecologia.* 140: 36–45.
- Pfennig DW, Wund MA, Snell-Rood EC, Cruickshank T, Schlichting CD, Moczek AP. 2010. Phenotypic plasticity's impacts on diversification and speciation. *Trends Ecol Evol.* 25: 459-467.
- Pfennig DW, Ehrenreich IM. 2014. Towards a gene regulatory network perspective on phenotypic plasticity, genetic accommodation and genetic assimilation. *Mol. Ecol.* 23: 4438–4440.
- Pigliucci M, Murren CJ, Schlichting CD. 2006. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *J. Exp. Biol.* 209: 2362–2367. <https://doi.org/10.1242/jeb.02070>
- Price T, Qvarnström A, Irwin DE. 2003. The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 270: 1433-1440.

- Proulx R, Magnan P. 2002. Physiological performance of two forms of lacustrine brook charr, *Salvelinus fontinalis*, in the open-water habitat. Environ. Biol. Fish. 64: 127–136.
- Proulx R, Magnan P. 2004. Contribution of phenotypic plasticity and heredity to the trophic polymorphism of lacustrine brook charr (*Salvelinus fontinalis* M.). Evol. Ecol. Res. 6: 503–522.
- Rainville V, Filion A, Lussier I, Pépino M, Magnan P. 2021a. Does ecological release from distantly related species affect phenotypic divergence in brook charr? Oecologia. (in press)
- Rainville V, Pépino M, Magnan P. 2021b. Parallel evolution of morphological traits and body shape in littoral and pelagic brook charr along a gradient of interspecific competition. Oecologia. (submitted)
- Robinson BW, Wilson DS, Margosian AS, Lotito PT. 1993. Ecological and morphological differentiation of pumpkinseed sunfish in lakes without bluegill sunfish. Evol. Ecol. 7: 451-464
- Robinson BW, Parsons KJ. 2002. Changing times, spaces, and faces: tests and implications of adaptive morphological plasticity in the fishes of northern postglacial lakes. Can. J. Fish. Aquat.Sci. 59: 1819–1833.
- Robinson BW, Wilson DS. 1994. Character release and displacement in fishes: a neglected literature. Am. Nat. 144: 596–627.
- Robinson BW, Wilson DS. 1996. Genetic variation and phenotypic plasticity in a trophically polymorphic population in pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus*). Evol. Ecol. 10: 631–652.

- Rouleau S, Glemet H, Magnan P. 2010. Effects of morphology on swimming performance in wild and laboratory crosses of brook trout ecotypes. *Funct. Ecol.* 24: 310–321.
- Rogers S, Gagnon V, Bernatchez L. 2002. Genetically based phenotype-environment association for swimming behavior in lake whitefish ecotypes (*Coregonus clupeaformis* Mitchill). *Evolution.* 56: 2322–2329.
- Russo VE, Martienssen RA, Riggs AD. 1996. *Epigenetic Mechanisms of Gene Regulation*. Cold Spring Harbor Laboratory Press; Cold Spring Harbor, NY, USA.
- Ryu T, Veilleux HD, Donelson JM, Munday PL, Ravasi T. 2018. The epigenetic landscape of transgenerational acclimation to ocean warming. *Nat. Clim. Change.* 8: 504–509
- Sacotte S, Magnan P. 2006. Inherited differences in foraging behaviour in offspring of two forms of lacustrine brook charr. *Evol. Ecol. Res.* 8: 843–857.
- Scheiner SM. 2006. Genotype-environment interactions and evolution. In: Fox CW, Wolf JB, editors. *Evolutionary genetics: Concepts and case studies*. Oxford: Oxford University Press. p. 326–338.
- Schluter D. 1996. Ecological speciation in postglacial fishes. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 351: 807–814.
- Schulter D. 2000. *The Ecology of Adaptive Radiation*. New York, Oxford University Press.
- Schneider RF, Meyer A. 2016. How plasticity, genetic assimilation and cryptic genetic variation may contribute to adaptive radiations. *Mol. Ecol.* 26: 330–350. doi: 10.1111/mec.13880.
- Shea N, Pen I, Uller T. 2011. Three epigenetic information channels and their different roles in evolution. *J. Evol. Biol.* 24: 1178–1187.

- Skinner MK. 2008. What is an epigenetic transgenerational phenotype? F3 or F2. *Reprod. Toxicol.* 25: 2–6.
- Skúlason S, Smith TB. 1995. Resource polymorphism in vertebrates. *Trends Ecol. Evol.* 10: 366–370.
- Smith G, Ritchie MG. 2013. How might epigenetics contribute to ecological speciation? *Curr. Zool.* 59: 686–696.
- Smith TB, Skúlason S. 1996. Evolutionary significance of resource polymorphism in fishes, amphibians, and birds. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 27: 111–133.
- Stearns SC. 1989. The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *Bioscience.* 39: 436–445.
- Stickrod G, Kimble DP, Smotherman WP. 1982. *In utero* taste/odor aversion conditioning in the rat. *Physiol. Behav.* 28: 5–7.
- Storm JJ, Lima SL. 2010. Mothers forewarn offspring about predators: a transgenerational maternal effect on behavior. *Am. Nat.* 175: 382–390.
- Taylor EB, Bentzen P. 1993. Evidence for multiple origins and sympatric divergence of trophic ecotypes of smelt (*Osmerus*) in northeastern North America. *Evol.* 47: 813–832.
- Venne H, 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.
- Webb PW. 1984. Body form, locomotion and foraging in aquatic vertebrates. *Am. Zool.* 24: 107–120.
- Whitman DW, Agrawal AA. 2009. What is phenotypic plasticity and why is it important? In: Whitman DW, Ananthakrishnan TN, editors. *Phenotypic Plasticity of Insects: Mechanisms and consequences*. Boca Raton, FL: CRC. p.1–63.

- Wimberger PH. 1994. Trophic polymorphism, plasticity, and speciation in vertebrates. In: Stouder DJ, Fresh KL, Feller RJ, editors. Theory and Application in Fish Feeding Ecology. Columbia, SC: University of South Carolina Press. p. 19-43.
- Winemiller KO. 1991. Eco-morphological diversification in lowland freshwater fish assemblages from five biotic regions. Ecol. Monogr. 61: 343–365.
- Wood CC, Foote CJ. 1990. Genetic differences in early development and growth of sympatric sockeye salmon and Kokanee (*Oncorhynchus nerka*) and their hybrids. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 47: 2250-2260.