

Université de Montréal

**Variations développementales chez les poissons hybrides
clonaux *Chrosomus eos-neogaeus* :
Transgressions phénotypiques en 3D**

par Kevin Duclos

Département de Sciences Biologiques
Faculté des Arts et Sciences

Mémoire présenté
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise ès sciences
en Sciences Biologiques

Août 2016

© Duclos, 2016

Résumé

Le succès écologique des organismes dépend principalement de leur phénotype. Une composante importante du phénotype est la morphologie fonctionnelle car elle influence la performance d'un organisme donné dans un milieu donné et donc reflète son écologie. Des disparités dans la morphologie fonctionnelle ou dans le développement entre espèces peuvent donc mener à des différences écologiques.

Ce projet évalue le rôle des mécanismes de variation morphologique dans la production de différences écologiques entre espèces au sein des poissons hybrides du complexe *Chrosomus eos-neogaeus*. En utilisant la microtomodensitométrie à rayons X et la morphométrie géométrique 3D, la forme des éléments des mâchoires est décrite pour comparer la variation morphologique et les différences développementales entre les membres du complexe *C. eos neogaeus*.

Les hybrides présentent autant de variation phénotypique que les espèces parentales et présentent des phénotypes nouveaux, dit transgressifs. Les hybrides présentent aussi des différences marquées avec les espèces parentales dans leur allométrie et dans leur intégration phénotypique. Finalement, ceux-ci semblent être plastiques et en mesure de modifier leur phénotype pour occuper plusieurs environnements. L'entièreté de ces résultats suggère que des changements dans le développement des hybrides entraînent une différenciation phénotypique et écologique avec les espèces parentales.

Mots-clés : Morphométrie géométrique, μ CT-scan, transgression phénotypique, hybridation, allométrie, intégration phénotypique, *Chrosomus eos-neogaeus*

Abstract

An organism's success is highly dependent on its phenotype. A major component of the phenotype is functional morphology because of its role in determining performance in a given environment clues as to their ecology. Morphological disparity and developmental differences between species can thus lead to ecological differences.

This project assesses the role that mechanisms capable of generating morphological variation have in producing ecological differences between species within the hybrid fishes of the *Chrosomus eos-neogaeus* complex. Using X-ray based computer-aided micro-tomography and 3D geometric morphometrics, the shape of bones composing the jaws was described to measure morphological variation and developmental differences in the *C. eos-neogaeus* complex.

Chrosomus eos-neogaeus hybrids displayed as much variation as parental species and novel, deemed transgressive, phenotypes. Hybrids were also markedly different from parental species in their patterns of allometric scaling and phenotypic integration. Finally, hybrids appeared to be plastic and able to acclimate to different environments. The results of this study indicate that changes in the development of hybrids could lead to phenotypic and, in turn, ecological differences with parental species.

Keywords : Geometric morphometrics, μ CT-scan, phenotypic transgression, hybridization, allometry, phenotypic integration, *Chrosomus eos-neogaeus*

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	ii
Table des matières.....	iii
Liste des tableaux.....	vi
Liste des figures	viii
Liste des abréviations.....	xi
Remerciements.....	xiii
Introduction.....	1
Chapitre 1 : Revue de littérature	3
1.1. La niche écologique	3
1.1.1. La niche fondamentale et la niche effective	3
1.1.2. Compétition et partitionnement des ressources	4
1.2. Le phénotype.....	5
1.2.1. La morphologie fonctionnelle.....	5
1.2.2. Développement	8
1.2.3. La plasticité phénotypique	9
1.2.4. Allométrie	10
1.2.5. La modularité et l'intégration phénotypique.....	10
1.3. L'hybridation	12
1.3.1. Hybridation et asexualité	14
1.3.2. Modèle d'étude : le complexe <i>Chrosomus eos-neogaeus</i>	15
1.3.3. La morphologie fonctionnelle de <i>C. eos-neogaeus</i>	16
1.4. Avancées méthodologiques et technologiques	20
1.4.1. La morphométrie géométrique.....	20
1.4.2. Micro-tomodensitométrie à rayons X assistée par ordinateur	21
1.5. Objectifs généraux et prédictions.....	22

Chapitre 2 : Innovation through hybridization : morphological and developmental transgressions in the jaws of <i>Chrosomus eos-neogaeus</i> clonal fishes	24
2.1. Abstract	25
2.2. Background	26
2.3. Material and methods	32
2.3.1. Specimen sampling and genetic identification	32
2.3.2. X-ray Micro-computed tomography and reconstruction	32
2.3.3. Geometric morphometric analyses	33
2.3.4. Shape analyses	35
2.3.5. Size and allometry	35
2.3.6. Closeness and transgression	36
2.4. Results	38
2.4.1. Morphological variation within the <i>C. eos-neogaeus</i> complex	38
2.4.2. Allometric variation and trait interactions	42
2.4.3. Closeness and transgression	45
2.5. Discussion	47
2.5.1. Patterns of phenotypic dominance, transgression and variation in <i>C. eos-neogaeus</i> hybrids	47
2.5.2. Developmental and mosaic responses to hybridization	49
2.5.3. Does morphological transgression mean ecological transgression?	51
2.5.4. Conclusion	52
2.6. Supplementary data	54
Chapitre 3 : Discussion	56
3.1. Retour sur les objectifs	56
3.2. Variations morphologiques et développementales chez les hybrides <i>C. eos-neogaeus</i>	57
3.2.1. Dominance génétique chez <i>C. eos-neogaeus</i>	58
3.2.2. Variation et transgressions phénotypiques chez <i>C. eos-neogaeus</i>	59
3.2.3. Changements développementaux suite à l'hybridation	60
3.3. Différences écologiques au sein du complexe <i>C. eos-neogaeus</i>	62
3.3.1. L'effet de l'environnement sur la variation morphologique	63

3.3.2. La morphologie fonctionnelle de <i>C. eos-neogaeus</i>	66
3.4. Pertinence du modèle dans la littérature sur l'hybridation	70
Conclusion	72
Bibliographie.....	a

Liste des tableaux

Table 1. Pairwise comparisons for shape between biotypes. Values shown are the p-values for pairwise differences between biotypes calculated using pairwise t tests. Pairwise differences were tested for all jaw elements and paired groups are abbreviated as follows: E-H, <i>C. eos</i> and hybrids; E-N, <i>C. eos</i> and <i>C. neogaeus</i> ; H-N, hybrids and <i>C. neogaeus</i> . P-values in bold are significant.....	40
Table 2. Morphological integration of the jaws within the <i>C. eos-neogaeus</i> complex. Morphological integration was evaluated using partial least squares regressions between structures using shape and centroid size as variables. Significant p-values are in bold. Abbreviations: r, partial least squares regression coefficient; p, p-value for partial least squares regressions.....	45
Supplementary Table 1. Effect of biotype on shape and pairwise shape comparisons in the <i>C. eos-neogaeus</i> complex. Statistical significance of biotype effect on shape was calculated using a one-way MANOVA. Biotypes were compared two-by-two using multivariate t tests. Abbreviations: E-H, <i>C. eos</i> and hybrids; E-N, <i>C. eos</i> and <i>C. neogaeus</i> ; H-N, hybrids and <i>C. neogaeus</i> . P-values in bold are significant.....	54
Supplementary Table 2. Differences in shape variation within the <i>C. eos-neogaeus</i> complex. Tuckey Tests on mean distance to centroid per group were performed to assess differences in shape variation between hybrids and parentals species. Differences in mean distance to centroid (Diff) were calculated as well as adjusted P-values (Adj. P). Abbreviations: E-H, <i>C. eos</i> and hybrids; E-N, <i>C. eos</i> and <i>C. neogaeus</i> ; H-N, hybrids and <i>C. neogaeus</i> . P-values in bold are significant.....	54
Supplementary Table 3. Effect of biotype on Csize and pairwise Csize comparisons in the <i>C. eos-neogaeus</i> complex. Statistical significance of biotype effect on Csize was calculated using a one-way ANOVA. Biotypes were compared two-by-two using t tests. E-H, <i>C. eos</i> and hybrids; E-N, <i>C. eos</i> and <i>C. neogaeus</i> ; H-N, hybrids and <i>C. neogaeus</i> . P-values in bold are significant.....	55
Supplementary Table 4. MANOVA table for shape regression on Csize. Linear regressions of shape on log(Csize) were computed for each element of the jaws. Slopes were compared and tested using MANOVA to test for a per group allometry. The overall effect of log(Csize),	

biotype and the interaction of the two was tested using MANOVAs. Significant values are in bold. 55

Supplementary Table 5. Transgression and similarity to parental species. Closeness to parental species were computed for each jaw element for *C. eos-neogaeus* hybrids. Vector permutation and trajectory analysis was used to test for significativity of transgression. Vector permutation and trajectory analysis results are expressed as p-values. Significant values are in bold. 55

Tableau 3.1. Effet de du site d'échantillonnage sur la forme des éléments des mâchoires chez *C. eos-neogaeus*. L'effet du site d'échantillonnage sur la forme des différents éléments des mâchoires a été testé avec des MANOVAs. Les valeurs significatives sont en gras. 66

Liste des figures

Figure 1.1. Paradigme des études en écomorphologie, tiré, traduit et modifié de Wainwright 1994. (titre original: Flow diagram showing the paths through which phenotypic variation influences individual and population and community ecology). Le phénotype affecte l'écologie car il détermine les limites d'un individu à effectuer des comportements journaliers. La capacité de performance interagit avec l'environnement pour restreindre et former les patrons d'utilisation des ressources. L'utilisation des ressources est le premier facteur déterminent les deux composantes de la valeur adaptative, soit la reproduction et la survie. De plus, les patrons d'utilisation des ressources jouent un rôle central dans l'écologie à l'échelle de l'individu. L'écologie individuelle est cumulée et régit les dynamiques de populations et la structure des communautés (légende tirée et traduite de Wainwright 1994). La flèche pointillée rouge est un ajout à la figure originale et souligne l'interaction unidirectionnelle indirecte que la survie de l'organisme a sur sa capacité de reproduction. 7

Figure 1.2. Modifications de l'appareil trophique et position des arcs pharyngiens chez *Chrosomus eos-neogaeus*. A : photographie latérale d'une reconstitution du squelette de *C. eos-neogaeus* d'un spécimen des mâchoires en position fermée. Les mâchoires sont entourées en bleu et on peut noter l'absence de dents sur celles-ci. En contrepartie, les Arcs Pharyngiens, surlignés en rouge, sont modifiées en mâchoire pharyngienne. Les Arcs pharyngiens sont les 5èmes arcs branchiaux et se situent donc en position postérieure des arcs branchiaux 1 à 4, surlignées en jaune. B : Représentation schématique latérale du positionnement des arcs pharyngiens par rapports aux éléments crâniens (basé sur une illustration de Sibbing, 1992, et sur des observations personnelles, le schéma présenté ici est une simplification et ne consiste en aucun cas une représentation exhaustive de la morphologie crânienne de *C. eos-neogaeus*). Les Arc pharyngiens sont représentés en rouge et les Arcs Branchiaux en jaune, les mâchoires sont entourées en bleu et la forme externe du poisson est schématisée en gris. Abréviations : k, kinethmoïde ; m, maxillaire ; p, prémaxillaire ; d, dentaire ; ah, arc hyoïdien ; rb, rayons branchiostèges ; cp, ceinture pectorale ; pm, plaque masticatrice. 17

Figure 1.3. Schématisation de la morphologie des mâchoires et de la protrusion prémaxillaire chez *C. eos-neogaeus*. A : Vue latérale des mâchoires en position fermée avec le volume buccal en bleu. B : vue latérale des mâchoires en position de protrusion prémaxillaire

avec le cône de succion en bleu. Les mouvements de chaque os pour effectuer la protrusion sont détaillés :1, le dentaire s'affaisse ; 2, le maxillaire est poussé vers l'avant sur le prémaxillaire ; 3, le kinethmoïde effectue une rotation ; 4, le prémaxillaire est projeté vers l'avant et effectue une rotation autour de la position rostrale. Le crâne est schématisé en gris et le ligament intermaxillaire est en rouge. Abréviations : k, kinethmoïde ; m, maxillaire ; p, prémaxillaire ; d, dentaire (Illustrations basées sur des observations personnelles). 19

Figure 1. Landmarking schemes for all elements of the jaws. Landmarking schemes for the A: dentary, B: maxilla, C: premaxilla and D: kinethmoid are represented. Circles represent landmark while diamonds represent semilandmarks. Landmark and semilandmark configurations as proposed reflect the consensus shape for each element after generalised Procrustes analysis using the bending energy criterion for semilandmark sliding. Illustrations are based on personal observations of jaw morphology. 34

Figure 2. Shape variation between parental species and *C. eos-neogaeus* hybrids. Shape variation in the complex is represented by bg-PCAs for A: the dentary, B: the maxilla, C: the premaxilla, D: the kinethmoid. Specimens scores on both bg-PCA axes are represented by blue, golden and green diamonds for *C. eos*, *C. neogaeus* and hybrids respectively. Convex hulls were drawn to better show overlap and overall phenotypic variation. 39

Figure 3. Shape variance of parental species and clonal hybrids Shape variation and distribution per biotype is shown for A : the dentary, B : the maxilla, C : the premaxilla and D : the kinethmoids using specimen distance to centroid. Abbreviations: E, *C. eos*; H, *C. eos-neogaeus* hybrids; N, *C. neogaeus*. 41

Figure 4. Size variation and predicted allometric scaling of parental species and *C. eos-neogaeus* hybrids. Boxplots for log(Csize) and scatterplots for Predicted shape as a function of log(Csize) are plotted for A: the dentary, B: the maxilla, C: the premaxilla and D: the kinethmoid. Predicted shape is calculated and compounded out of all shape principal components. Colors represent biotypes with blue, green and golden representing *C. eos*, hybrids and *C. neogaeus* respectively. Abbreviations: E, *C. eos*; H, hybrids; N, *C. neogaeus*. 43

Figure 5. Phenotypic transgression and similarity to parental species in *C. eos neogaeus* hybrids. Percentages for transgression and closeness to parental species for each jaw element was measured and plotted. Positive values for closeness indicate a tendency for structures to be more similar to *C. eos*, and negative values indicate the tendency to be more similar to *C.*

neogaeus. Golden, green and red respectively indicate that a structure is closer to *C. neogaeus*, intermediate or transgressive. *: p-value for trajectory analysis < 0.05. †: p-value for vector permutations <0.05. Abbreviations: d, dentary; m, maxilla; p, premaxilla; k, kinethmoid..... 46

Figure 3.1. Variation phénotypique des éléments des mâchoires de *C. eos-neogaeus* dans différents sites. La variation phénotypique du A: dentaire, B: du maxillaire, C: du prémaxillaire et D: du kinethmoïde sont montrés sous la force d'analyses en composantes principales. Seuls les deux premiers axes sont montrés pour la clarté de la visualisation. Les couleurs représentent différents sites d'échantillonnage : noir, lac à la barbotte ; rouge, lac Desjardins ; vert, lac Merde ; bleu, lac Paquette ; cyan, lac Richer ; magenta, lac Saad..... 65

Figure 3.2. Arcs pharyngiens des espèces parentales et des hybrides *C. eos-neogaeus*. Image tirée de Leung *et al.* En préparation. Les hybrides ont une morphologie globale au niveau des arcs pharyngiens qui est différente de celle des espèces parentales. Ces différences se retrouvent dans la forme des dents, de la courbe des arcs et dans les cavités pulpaire présentes sur les bordures externes des arcs. Les hybrides présentent une structure réticulée pour ces cavités, *C. eos* présentent des cavités plus larges et profonde et *C. neogaeus* présente une surface plus lisse et ponctuée de petites perforations..... 68

Liste des abréviations

BG-PCA : Between-group Principal components analysis

GPA: Generalized Procrustes analysis/Analyse Procrustes généralisée

GM : Geometric morphometrics

PCA/ACP : Principal components analysis/Analyse en composantes principales

μ CT : Microtomodensitométrie à rayons X

Hybridization has the potential of producing novel phenotypes that may serve as the starting point of a new evolutionary trajectory, or permit an acceleration along an existing trajectory

– Grant et Grant 1994

À Kathleen, Kelly et Nicolas

Remerciements

Je me dois, dans un premier temps, de remercier les organismes et fonds de financements qui m'ont permis de poursuivre ces recherches et de participer à de multiples stages et conférences. Merci au conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada et ensuite à Développement Économique Canada qui sont à l'origine du financement pour le Micro-tomodensitomètre à rayons-X. Merci au Groupe de Recherche Interuniversitaire en Limnologie et environnements aquatiques ainsi qu'au fond d'appui aux projets étudiants pour m'avoir permis de faire deux stages de recherche durant ma maîtrise. Merci à la Société Canadienne de Zoologie de m'avoir financé en partie pour présenter mes travaux à Calgary et London. Finalement, merci aux fonds de bourse en Sciences Biologiques et Joseph-Arthur-Paulhus pour m'avoir octroyé des bourses qui m'ont permis de plus me concentrer sur ma recherche.

Ce projet est le résultat de non seulement deux années de Maîtrise mais aussi de mon cheminement de recherche en tant que stagiaire au baccalauréat. Ainsi j'aimerais remercier mes directeurs de recherches, Bernard Angers et Richard Cloutier, pour m'avoir donné la chance de faire ce travail et de pouvoir faire partie du monde de la recherche. J'aimerais aussi remercier Laure Cauchard car c'est grâce à son projet sur les mésanges charbonnières que j'ai pu découvrir le monde de la recherche scientifique de première main. Il va sans dire que je tiens à remercier aussi tous les membres du laboratoire, passés comme présent, qui sont trop nombreux pour être nommés mais qui sauront se reconnaître.

Ce projet aura reçu beaucoup de soutien scientifique et technique, mais c'est surtout grâce au soutien personnel et humain qui m'a été prodigué qu'il a pu réussir. J'aimerais remercier mes parents, France et Philippe Duclos qui ont toujours su accepter et m'appuyer dans mes choix, autant dans les études que dans la vie en général. Merci à mes deux sœurs, Kathleen et Kelly, qui ont toujours été un moteur de motivation et mon frère, Nicolas, que j'ai toujours considéré comme un rival et un exemple à suivre. Merci à ma belle-famille, le clan Bergeron, qui m'a écoutée des heures durant parler de petits poissons. Merci à mon ange, Cassi, d'avoir su me remonter le moral et me remettre sur le droit chemin lorsque je n'arrivais plus à travailler.

Finalement, il y a des personnes qui ont rendu cette maîtrise plus que juste une étape dans mon parcours académique. Vincent et Erik, vous êtes les meilleurs amis que j'aurais pu

rencontrer dans ce milieu, j'ai énormément apprécié tous les moments passés ensemble et je m'excuse des moments où j'ai été un poids plus qu'un ami.

Le dernier merci, et non le moindre, s'en va à Thomas Grünbaum qui aura été mon mentor, mon collègue et avant tout mon ami ! Merci Thomas de m'avoir fait découvrir l'évo-dévo, *psycho-pass* et *shingeki no kyojin*, la bière à l'eau de rose, Rimouski, et j'en passe. Merci de m'avoir encouragé dans mes démarches et mes idées de projet un peu folles. Et merci surtout de m'avoir montré que les scientifiques ne sont pas juste des machines de productivité, mais sont des humains, avec leurs forces et faiblesses, leurs sensibilités, leurs peines et leurs limites...

Introduction

Le succès écologique des organismes dépend de leur capacité à occuper et exploiter efficacement un habitat (Ricklefs et Miles 1994, Wainwright 1994). Cette capacité est en grande partie dépendante de leur phénotype car celui-ci détermine les comportements comme l'alimentation, l'exploration ou la reproduction de chaque organisme (Ricklefs et Miles 1994, Wainwright 1994). La morphologie fonctionnelle est une composante importante du phénotype qui influence la performance des organismes dans un milieu donné. La morphologie fonctionnelle des organismes va donc influencer leur écologie, mais aussi la dynamique des populations à l'échelle d'un habitat (Wainwright 1994).

Des disparités morphologiques entre espèces peuvent entraîner des différences dans l'utilisation des ressources et permettre la coexistence d'espèces proches. Ces différences peuvent être accrues par le biais de mécanismes développementaux. La morphologie fonctionnelle est mise en place lors du développement, lequel peut être plus ou moins labile et affecté par des signaux environnementaux. La variation développementale induite par l'environnement s'appelle la plasticité phénotypique (West-Eberhard 2003). D'autres mécanismes développementaux entrent en jeu pour augmenter ou régir la variabilité morphologique comme l'allométrie ou l'intégration phénotypique (Huxley 1932, Klingenberg 2016).

Le but de ce projet était d'évaluer le rôle des mécanismes de variation morphologiques dans la production de différences écologiques entre espèces. Les hybrides clonaux du complexe *Chrosomus eos-neogaeus* offrent la possibilité d'observer ses mécanismes en absence de variation génétique. De plus, les hybrides *C. eos-neogaeus* se reproduisent par gynogenèse et

doivent obligatoirement coexister avec les espèces parentales afin de se reproduire. Cette coexistence pourrait entraîner de la compétition inter-espèces entre les espèces parentales et les hybrides (Doeringsfeld *et al.* 2005, Mee *et al.* 2013). En utilisant la microtomodensitométrie et la morphométrie géométrique 3D, la forme de structures fonctionnelles comme les mâchoires pourra être décrite et comparée entre les différents membres du complexe *C. eos-neogaeus*.

Le présent projet s'organise en trois chapitres. Le premier chapitre porte sur la littérature relative au projet ainsi que les objectifs et prédictions de ce projet. Le deuxième chapitre concerne les différences morphologiques, de variation et développementales entre espèces parentales et les hybrides au sein du complexe *C. eos-neogaeus*, un complexe de poissons hybrides appartenant à l'ordre des Cypriniformes. Finalement, les rôles des mécanismes de variation et de la plasticité phénotypique de structures fonctionnelles des hybrides *C. eos-neogaeus* seront discutés dans le dernier chapitre.

Chapitre 1 : Revue de littérature

1.1. La niche écologique

1.1.1. La niche fondamentale et la niche effective

La niche écologique est un concept central à toute étude portant sur l'écologie des espèces. Par définition, la niche écologique est la position occupée en nature par une population (Van Valen 1965) ; c'est-à-dire qu'elle consiste en tous les paramètres ou variables environnementales, biotiques et abiotiques, nécessaires à la survie, au maintien et à la perpétuation d'une population donnée (Pianka 1974, Wiens et Graham 2005).

En résumé, le concept de la niche écologique englobe différents aspects tels que les habitudes alimentaires, la reproduction et l'utilisation de l'habitat (Wiens et Graham 2005). Une vision mathématique de la niche est celle d'un hyper volume avec autant de dimensions qu'il y a de variables environnementales, qu'elles soient des ressources ou des conditions abiotiques comme le pH, la température ou la photopériode (Ricklefs 2009). Les ressources représentent notamment la présence de nourriture, le type de substrat, la présence d'abris et de sites de reproduction.

La niche dépend également des facteurs biotiques. En effet, les différentes interactions entre espèces comme la compétition, la prédation ou encore le parasitisme affecteront les conditions du milieu (Callaway *et al.* 2003, Callaway et Ridenour 2004, Ricklefs 2009). Un habitat, ou un écosystème particulier, aura une gamme de niches disponibles qui seront comblées par diverses espèces (Ricklefs et Miles 1994, Ricklefs 2009).

Bien que les écosystèmes soient dynamiques et que leurs conditions abiotiques varient en fonction du temps, comme par exemple la température qui va changer au cours des saisons, la

composition en espèces restera globalement stable (Ricklefs et Miles 1994, Ricklefs 2009). La niche fondamentale d'un organisme n'est, par conséquent, pas seulement un point dans l'hyper-volume mais plutôt l'ensemble des conditions environnementales et leurs variations tolérées pour chaque espèce (Pearman *et al.* 2008).

Un organisme n'occupera donc pas en nature sa niche fondamentale, mais plutôt une sous-section de celle-ci : sa niche effective (Pearman *et al.* 2008, Ricklefs 2009). Comme il n'existe pas deux environnements identiques, chaque population retrouvée dans des sites différents occupera une niche effective différente (Pianka 1974).

1.1.2. Compétition et partitionnement des ressources

Les niches occupées par différentes espèces peuvent se chevaucher ; deux espèces peuvent par exemple, utiliser la même ressource alimentaire (Wiens et Graham 2005). Ces espèces peuvent alors entrer en compétition lorsque les ressources commencent à manquer, pouvant entraîner, entre autres, la disparition du milieu d'une des espèces (Pianka 1974, Levins et Culver 1971). Inversement, certaines espèces se partitionnent l'habitat et utilisent des ressources différentes (Pianka 1974).

Le partitionnement des ressources peut concerner l'alimentation mais la compétition peut se faire à l'égard de bien d'autres aspects d'une niche, comme les abris et les espaces de fraie ou de nidification (Pianka 1974, Callaway et Ridenour 2004). Certaines espèces sont généralistes ; elles profitent d'une labilité accrue quant à l'exploitation de leur habitat et peuvent ainsi utiliser une gamme de ressources plus variée (Richards *et al.* 2006). Cette tendance implique que ces espèces peuvent limiter l'effet de la compétition en limitant le nombre ou le type de ressources qu'elles utiliseront (Callaway *et al.* 2003).

On peut également observer le partitionnement de ressources pour une même espèce. En effet, il est possible d'observer la formation de sous-populations occupant des niches effectives différentes à l'échelle du micro-habitat (Pianka 1974). Ces variations locales peuvent entraîner la formation de populations parapatriques et, donc, jouer un rôle dans la spéciation (Fisher -Reid *et al.* 2013). Ce partitionnement n'est cependant pas automatique et va souvent nécessiter des modifications comportementales et morphologiques afin de permettre à des organismes de changer leur utilisation des ressources et de maintenir leur succès écologique (Pfennig *et al.* 2006).

1.2. Le phénotype

La niche écologique qu'occupe un organisme dépend tout d'abord de son phénotype, c'est-à-dire de l'ensemble des traits et caractères observables qui permettent de le définir (Van Valen 1965, West-Eberhard 2003). Le phénotype d'un organisme peut se concevoir comme la résultante de l'interaction de son développement et de son environnement, le premier étant régi en grande partie par son génotype, ainsi que de variations stochastiques (Davidson *et al.* 2002).

1.2.1. La morphologie fonctionnelle

La morphologie fonctionnelle est une composante importante du phénotype qui peut renseigner sur l'écologie des organismes. L'étude de la morphologie en relation avec l'écologie des populations repose sur l'idée que certains modules morphologiques sont hautement spécifiques au mode de vie des animaux, jusqu'à parfois être très disparates entre espèces proches (Ricklefs et Miles 1994, Wainwright 1994). La morphologie externe aura un impact non négligeable sur la niche dans la mesure où elle regroupe des structures fonctionnelles essentielles à l'organisme pour interagir avec son environnement. La morphologie externe est néanmoins dépendante de

la morphologie interne, donc de l'organisation de tissus tels que les muscles. Chez les vertébrés, les muscles sont ancrés sur un cadre semi-rigide : le squelette (Cheverud 1982). Le squelette sous-tend beaucoup d'aspects du phénotype sur lesquels les pressions sélectives peuvent s'exercer (Frederich *et al.* 2001). La morphologie squelettique des organismes est une composante importante du phénotype qui se divise aisément en systèmes fonctionnels. Divers systèmes osseux vont démontrer des modifications spécifiques à certains environnements (Rüber et Adams 2001).

Dans un environnement donné, les caractères morphologiques sont des témoins de l'utilisation de l'habitat faite par les espèces qui l'occupent, ils agissent en définissant les limites fonctionnelles des organismes et peuvent être modifiés par l'environnement (Rüber et Adams 2001, Wainwright 1994). Les concepts derrière les recherches de Wainwright (1994) ou de Albertson (Albertson *et al.* 2003, Albertson et Kocher 2006), illustrés en Figure 1.1, ont pour but de montrer des divergences morphologiques entre des populations afin de mettre en évidence leurs différences écologiques sans avoir à mesurer directement les variables associées à leur niche, particulièrement quand celles-ci sont difficiles à quantifier (Van Valkenburgh 1994, Wainwright 1994).

Cependant ces analyses ne sont pas toujours en mesure de prédire précisément la niche qu'occupe un organisme en fonction de sa morphologie, ni d'associer une morphologie optimale avec un succès écologique accru.

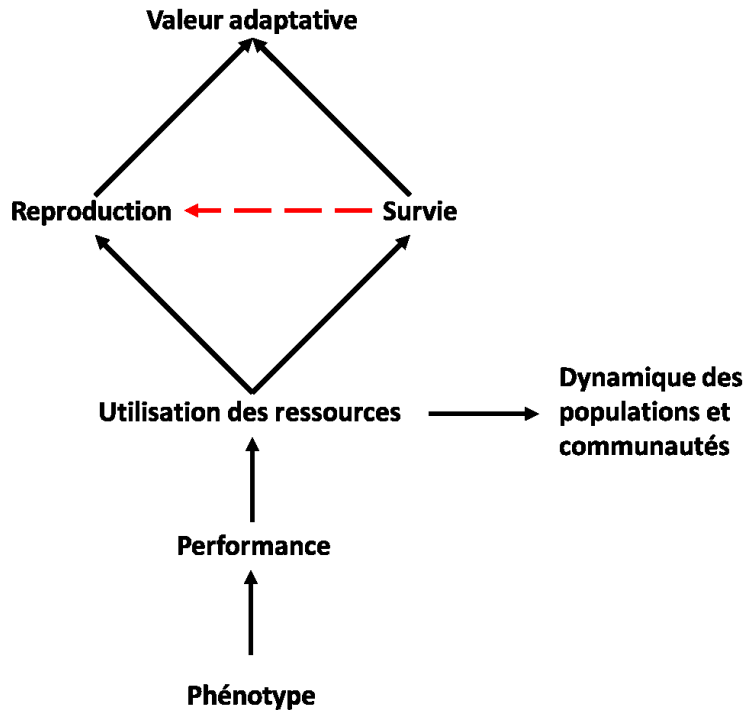


Figure 1.1. Paradigme des études en écomorphologie, tiré, traduit et modifié de Wainwright 1994. (titre original: Flow diagram showing the paths through which phenotypic variation influences individual and population and community ecology). Le phénotype affecte l'écologie car il détermine les limites d'un individu à effectuer des comportements journaliers. La capacité de performance interagit avec l'environnement pour restreindre et former les patrons d'utilisation des ressources. L'utilisation des ressources est le premier facteur déterminant les deux composantes de la valeur adaptative, soit la reproduction et la survie. De plus, les patrons d'utilisation des ressources jouent un rôle central dans l'écologie à l'échelle de l'individu. L'écologie individuelle est cumulée et régit les dynamiques de populations et la structure des communautés (légende tirée et traduite de Wainwright 1994). La flèche pointillée rouge est un ajout à la figure originale et souligne l'interaction unidirectionnelle indirecte que la survie de l'organisme a sur sa capacité de reproduction.

En effet, il est accepté que la morphologie d'un organisme est associée à l'utilisation qu'il fait de son habitat¹ (Wainwright 1994, Rüber et Adams 2001, Albertson et Kocher 2006).

¹ - L'association entre la morphologie d'un organisme et son utilisation de l'habitat n'est pas une relation à sens unique. Il est logique de concevoir que la morphologie d'un organisme impose des contraintes sur les capacités d'un organisme à utiliser son habitat mais des changements environnementaux pourront en retour influencer la morphologie de ce dernier.

Les travaux d'Albertson et Kocher (2001) sur les mâchoires des poissons cichlidés utilisent cet aspect afin de discerner des différences de niches alimentaires entre plusieurs espèces sympatriques dans le lac Tanganyika. Dans un environnement donné, des différences morphologiques dans un système étroitement associé avec une fonction, comme c'est le cas pour des mâchoires et l'alimentation, indiqueront souvent des différences dans cette fonction (Wainwright 1994, Stewart et Albertson 2010). Différents facteurs environnementaux auront, de plus, un impact direct sur la forme. Par exemple, les dents d'*Astatoreochromis alluaudi*, un cichlidé d'Afrique de l'Est, subiront une molarisation en réponse à des aliments plus rigides, elles se densifieront et leur base deviendra plus large (Günter *et al.* 2013). La forme de la bouche des poissons renseignera de plus sur le type de nourriture qu'ils peuvent consommer ainsi que le comportement associé à la nutrition (Albertson et Kocher 2001). Des différences dans la morphologie associée à la fonction alimentaire peuvent même expliquer la cohabitation de plusieurs espèces, ou même de plusieurs biotypes d'une même espèce dans un même habitat (Albertson et Kocher 2006). En effet, des différences assez marquées peuvent entraîner des différences dans l'utilisation de l'habitat et, par conséquent, une diminution de la compétition (Albertson et Kocher 2006).

1.2.2. Développement

Plusieurs mécanismes développementaux peuvent jouer un rôle dans la production de phénotypes constants ou variables au niveau d'une population (West-Eberhard 2003). Par exemple, la stabilité développementale est la capacité du développement à produire une forme constante pour un même génotype (Clarke 1993, Breuker *et al.* 2006). À l'opposé, de l'instabilité développementale implique des formes plus variables pour un même génotype (Clarke 1993). La stabilité du développement peut altérer la variation phénotypique observée

dans une population et peuvent devenir des stratégies intéressantes adoptées dans différentes conditions environnementales (Pigliucci 2005, Richards *et al.* 2006).

1.2.3. La plasticité phénotypique

La relation entre le génotype et le phénotype n'est pas une relation d'un-pour-un malgré qu'elle ait souvent été représentée de cette manière dans la littérature (Pigliucci 2005). Bien que l'information génétique soit constante d'une cellule à l'autre, celle-ci n'est pas exprimée de la même manière dans toutes les cellules. De même, pour un même génotype, le développement d'un individu peut être plus ou moins labile et influencé par des conditions environnementales (Pigliucci 2005, Richards *et al.* 2006). Ceci implique que plusieurs phénotypes différents pourront être produits à partir d'un même génotype, dépendamment du milieu dans lequel celui-ci s'exprime; c'est ce que l'on appelle la plasticité phénotypique (Pigliucci 2005, Richards *et al.* 2006).

La plasticité phénotypique implique en effet qu'un organisme se développera de manière différente selon les milieux et qu'il pourra s'acclimater suites à des changements environnementaux au cours de sa vie (West-Eberhard 2003). A l'opposé, le génotype d'un individu peut être plus robuste face à l'environnement et diriger le développement de manière à ce que la gamme potentielle de phénotypes soit réduite, auquel cas on parle de canalisation phénotypique environnementale (Willmore *et al.* 2007).

La plasticité phénotypique est liée à un succès écologique plus élevé dans des environnements dont les conditions sont changeantes ou qui sont sujets à des perturbations (Svånback *et al.* 2009). La plasticité phénotypique va également influencer les interactions que différentes espèces ont avec leur environnement, leur permettant, par exemple, de se protéger contre des prédateurs. Les épinoches à trois épines, *Gasterosteus aculeatus*, offrent un bon

exemple de plasticité phénotypique induite par des prédateurs. Ces poissons sont connus pour des variations morphologiques importantes lors du passage d'environnement d'eaux douces à des eaux salées où ceux-ci présentent un morphe « à armure ». Ils démontrent aussi une modification au niveau de leurs épines dorsales lorsqu'ils sont en présence de prédateurs naturels (Garduño-Paz *et al.* 2010, Frommen *et al.* 2011).

1.2.4. Allométrie

De façon générale, lorsqu'un organisme est en croissance, son phénotype se modifie et la principale modification sera sa taille. Cependant des processus allométriques peuvent entraîner des modifications phénotypiques localisées (Huxley 1932). L'allométrie, ou la croissance différentielle, est un processus par lequel les relations géométriques entre différents traits morphologiques sont modifiées durant la croissance (Huxley 1932, 1950, Klingenberg 2016). Modifier les réponses allométriques de divers traits peut rapidement engendrer de la divergence phénotypique entre organismes comme conséquence de corrélations plus ou moins fortes entre traits durant la croissance (Huxley 1932, 1950, Bonduriansky et Day 2003, Stillwell *et al.* 2016). L'allométrie en tant que processus développemental joue un rôle dans la création de divergences phénotypiques entre différents taxons. Cependant celle-ci devient souvent canalisée au sein d'un taxon, limitant ainsi la variation inter-individuelle malgré la variation environnementale et génétique au sein des populations (Waddington 1942, Zelditch *et al.* 2006, Zelditch *et al.* 2008, Klingenberg 2016).

1.2.5. La modularité et l'intégration phénotypique

Le phénotype des organismes est organisé en modules : ce sont des éléments ou systèmes qui constituent un tout autonome selon des critères développementaux, temporeux, fonctionnels ou

de variation (Raff 2000, Wagner *et al.* 2007). Le concept de modularité est primordial dans les études morphologiques, car il permet de définir les limites des traits morphologiques étudiés selon l'approche analytique (Hallgrímsson *et al.* 2009, Wagner *et al.* 2007).

Trois catégories de modules morphologiques peuvent être définies. Premièrement, les modules développementaux : ils constituent l'ensemble des cellules et des tissus qui proviennent de la même origine embryonnaire. Ensuite il y a des modules variationnels à l'intérieur desquels tous les éléments covarieront comme un tout, au cours de l'ontogénie d'un organisme ou encore au sein d'une population (Young *et al.* 2005, Young 2006, Mitteroecker 2009). Des traits constituent un module variationnel lorsqu'ils covarient entre eux, mais pas avec d'autres éléments ou traits (Young *et al.* 2005, Mitteroecker 2009).

L'intégration phénotypique s'oppose à la modularité variationnelle. L'intégration implique de fortes interactions génétiques et une cohésion entre différents éléments, souvent associées à des ensembles de structures fonctionnelles (Zelditch *et al.* 2008). L'intégration phénotypique entre différents éléments permet de produire des systèmes dont la fonction n'est pas empêchée par le changement d'une sous-partie en accommodant ce changement dans l'ensemble du module (Wagner *et al.* 2007).

Les modules fonctionnels sont des traits qui opèrent ensemble pour effectuer une fonction utile à l'organisme. Ceux-ci peuvent englober les autres types de modules puisque, pour arriver à une fonction, plusieurs éléments doivent se développer, covarier entre eux et assurer un mécanisme optimal (Young *et al.* 2005, Parsons *et al.* 2012, Hu *et al.* 2014). Ce type de modularité est particulièrement intéressant justement parce qu'il intègre les autres types de modules et permet de les analyser dans le cadre d'une fonction utile à l'écologie de l'organisme (Wagner *et al.* 2007). C'est généralement au niveau de la fonction que les pressions de sélection

s'exerceront. De fait, observer la mise en place et la variation de modules fonctionnels permet de comprendre l'évolution des traits au niveau développemental (Travis 1994, West -Eberhard 2003). La division en modules fonctionnels permet donc d'étudier comment des mécanismes de variation peuvent affecter le phénotype et, donc, comment ils pourront ensuite affecter la niche écologique.

1.3. L'hybridation

Alibert *et al.* (1994), décrivent les organismes hybrides comme étant des descendants aux ancêtres mixtes. Cette image illustre convenablement l'hybridation qui se définit comme le croisement naturel entre des lignées génétiquement divergentes (Arnold 1997).

Suite à un évènement d'hybridation, beaucoup de génotypes hybrides souffriront d'une baisse de valeur adaptative par rapport aux espèces parentales et, souvent, l'hybridation ne produira pas d'organismes viables (Burke et Arnold 2001). L'hybridation entraîne donc la création de nouveaux génotypes qui n'ont jamais été soumis à la sélection naturelle (Burke et Arnold 2001). Par conséquent, un grand nombre de ces génotypes seront maladaptés à leur environnement et ne se reproduiront pas.

Le fait que les hybrides héritent un haplome de chaque lignée parentale est une partie du problème. Les génomes des lignées parentales ne partagent pas leur histoire évolutive et seront rarement coadaptés. Plus la divergence entre les lignées parentales est forte, plus leurs génomes deviennent incompatibles, donnant lieu à des organismes hybrides aux phénotypes aberrants ou stériles (Dowling et Secor 1997, Burke et Arnold 2001).

L'hybridation a longtemps été considérée comme un processus transitoire et sans rôle évolutif dans le règne animal (Arnold 1997). Cependant cette vision a progressivement changé

au cours des années 1990 et l'hybridation est maintenant reconnue comme un phénomène relativement courant chez les animaux (Burke et Arnold 2001). En effet, certains génotypes hybrides persistent et les populations ne sont pas toutes transitoires.

Certains génotypes peuvent en effet bénéficier d'un avantage sélectif (Johansen-Morris et Latta 2006). Le fait d'hériter des gènes de deux espèces différentes peut créer des phénotypes avantageux dans certains environnements et créer de la vigueur hybride lorsque les hybrides ont un succès écologique plus élevé que celui des parents (Arnold 1997). L'hybridation a de plus été liée à des processus de spéciation via la création de lignées indépendantes des lignées parentales dans leur reproduction et leur écologie (Burke et Arnold 2001).

Une partie de la littérature sur les organismes hybrides s'est donc focalisée sur l'effet que l'hybridation pouvait avoir sur la structure de la variation phénotypique dans les complexes d'espèces et comment les propriétés développementales telles que l'hétérochronie, l'allométrie et l'intégration phénotypique étaient affectées (Schillaci *et al.* 2005, Renaud *et al.* 2009). Ces recherches démontrent que les organismes hybrides ont tendance à être des intermédiaires phénotypiques entre les espèces parentales (Grant et Grant 1994, Ryan 2001) ; ces recherches reposent souvent sur l'utilisation de traits dont l'héritabilité est élevée (Grant et Grant 1994).

Néanmoins, d'autres travaux plus récents (Nolte et Sheets 2005, Renaud *et al.* 2009, Renaud *et al.* 2012) ont montré que les hybrides pouvaient démontrer des nouveautés phénotypiques par rapport aux espèces parentales et exhiber des morphologies dites transgressives. Des morphologies ou, de manière plus large, des phénotypes transgressifs chez des hybrides sont des phénotypes qui sortent de la gamme de phénotypes exhibés par les espèces

parentales, soit parce qu'ils sont qualitativement différents, soit parce qu'ils excèdent les valeurs parentales (Nolte et Sheets 2005, Renaud *et al.* 2009, Renaud *et al.* 2012)

L'hybridation est un mécanisme qui engendre des génotypes nouveaux qui résultent en des phénotypes qui n'étaient pas présents parmi les lignées parentales, de par les interactions génomiques et épistatiques entre les génomes parentaux (Grant et Grant 1994, Rieseberg *et al.* 2003, Seehausen 2004, Albertson et Kocher 2005). Ces nouveautés phénotypiques peuvent donner lieu à de la labilité écologique et permettre l'utilisation de nouvelles niches aux organismes hybrides.

1.3.1. Hybridation et asexualité

Les mécanismes de variation phénotypique sont généralement indépendants de la variation génétique au sein d'une population, cependant la variation phénotypique de la population ne l'est pas. Comme chaque génotype donné est unique dans une population sexuée, il est virtuellement impossible de comprendre comment un génotype sera affecté par des mécanismes de variation phénotypique. La situation idéale pour étudier ces mécanismes est donc celle de populations génétiquement uniformes : soit des populations clonales ou asexuées.

Certains complexes d'hybridation produisent des lignées hybrides qui se reproduisent de manière asexuée. Chez les Vertébrés, des taxons hybrides asexués sont connus chez les amphibiens, les reptiles et les poissons (Beukeboom et Vrijenhoek 1998). Ces espèces, de par leur nature, ne produisent pas, ou très peu, de variations génétiques et, donc, dépendent de mécanismes développementaux influencés par l'environnement, ou stochastiques, pour produire de la variation phénotypique (Castonguay et Angers 2012, Leung *et al.* 2016). Les espèces animales à reproduction asexuée permettent d'obtenir des répliques d'un même génotype car

toute la progéniture sera génétiquement identique au parent (Beukeboom et Vrijenhoek 1998). Un génotype donné se retrouvera en grande quantité dans un environnement donné mais peut aussi se retrouver dans une plus grande variété d'environnements dont les conditions seront différentes.

1.3.2. Modèle d'étude : le complexe *Chrosomus eos-neogaeus*

Chrosomus est un poisson de la famille des cyprinidés présent en Amérique du Nord. Deux espèces appartenant à ce genre, *Chrosomus eos* et *C. neogaeus*, ont justement la particularité de pouvoir s'hybrider naturellement (New 1962). L'hybride *Chrosomus eos-neogaeus*, est issu de l'hybridation d'un mâle *C. eos* et d'une femelle *C. neogaeus* (Angers et Schlosser 2007). Les hybrides ainsi formés sont toutes des femelles et se reproduisent par gynogenèse (Dawley *et al.* 1987, Goddard *et al.* 1998). Elles pondent des œufs au contenu génétique non réduit ; un spermatozoïde provenant soit de l'une soit de l'autre espèce parentale déclenchera le développement de l'œuf sans qu'il y ait d'inclusion du matériel génétique (Goddard et Dawley 1990). Toute la descendance d'un individu produit lors d'un événement d'hybridation lui sera donc génétiquement identique et constituera un clone ou une lignée hybride (Dawley *et al.* 1987, Goddard et Dawley 1990).

Par la nature de la gynogenèse, ces poissons ont besoin de vivre en sympatrie avec au moins une des deux espèces parentales (Dawley *et al.* 1987). Ceci implique donc qu'ils habitent dans le même milieu et pourraient entrer en compétition.

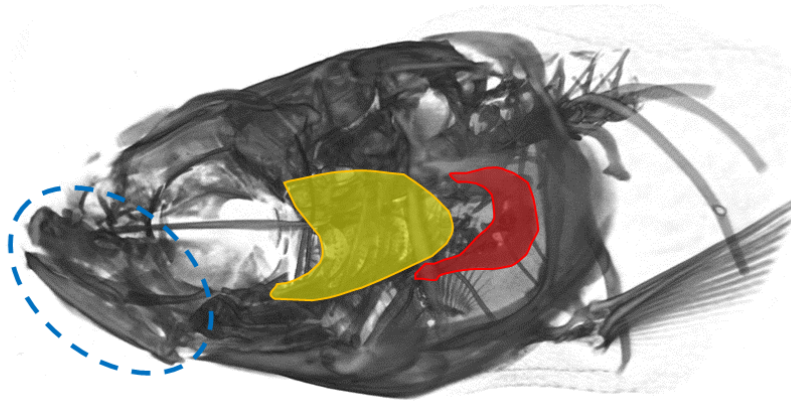
Des études ont déjà été conduites sur le complexe *Chrosomus eos-neogaeus*. Celles-ci montrent d'ailleurs, malgré le caractère asexué des hybrides, beaucoup de variations phénotypiques. Doeringsfeld *et al.* (2004) mentionnent même qu'ils présenteraient autant de variation qu'une population sexuée lorsque comparé aux espèces parentales.

De plus, plusieurs évènements d'hybridation ont eu lieu et, donc, il existe en nature plusieurs lignées gynogénétiques au matériel génétique différent (Vergilino *et al.* 2016). *Chrosomus eos-neogaeus* est donc un modèle idéal pour des études portant sur des mécanismes de variation phénotypique et le rôle que ceux-ci pourront jouer dans l'écologie des espèces, dans la mesure où il occupe une vaste gamme d'habitats différents (Massicote et Angers 2012, Leung *et al.* 2016), mais aussi sur le potentiel de l'hybridation dans la création de nouveauté phénotypique.

1.3.3. La morphologie fonctionnelle de *C. eos-neogaeus*

Chrosomus eos-neogaeus appartient au Cypriniformes : un ordre d'actinoptérygiens chez lesquels la morphologie trophique est hautement modifiée pour un mode d'alimentation par protrusion et succion (Gidmark *et al.* 2012). Les poissons de cet ordre ont perdu toute dentition sur leurs arcs mandibulaires (Harrington 1955). Leur 5^{ème} arc branchial, en contrepartie, est devenu une mâchoire pharyngienne pourvue de dents permettant de broyer la nourriture ingérée lorsqu'elle passe au travers de la cavité pharyngienne (Harrington 1955, Sibbing 1991, Huysseune et Sire 1998, Huysseune 2000, Figure 1.2.).

A)



B)

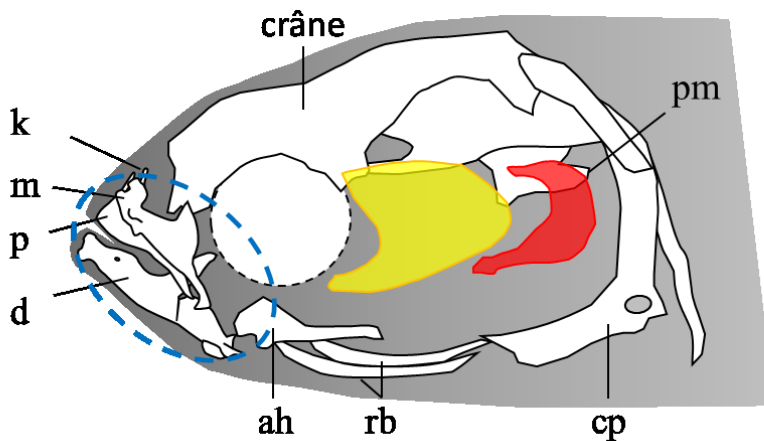
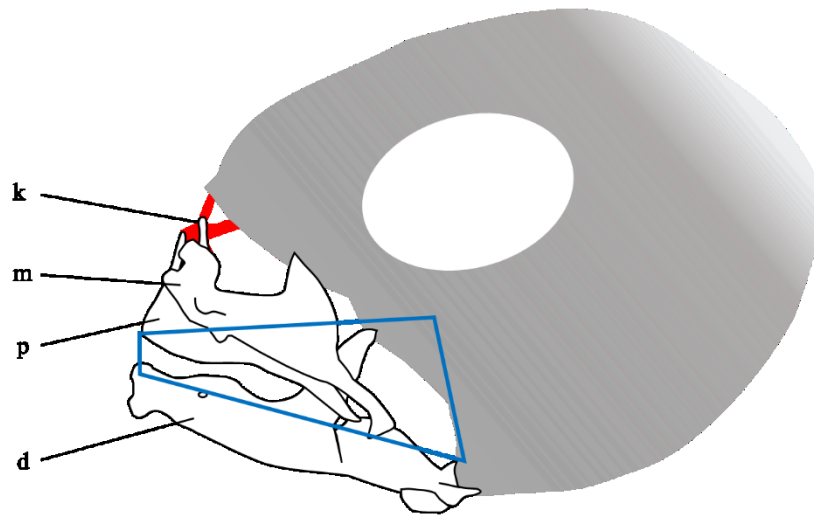


Figure 1.2. Modifications de l'appareil trophique et position des arcs pharyngiens chez *Chrosomus eos-neogaeus*. A : photographie latérale d'une reconstitution du squelette de *C. eos-neogaeus* d'un spécimen des mâchoires en position fermée. Les mâchoires sont entourées en bleu et on peut noter l'absence de dents sur celles-ci. En contrepartie, les Arcs Pharyngiens, surlignés en rouge, sont modifiées en mâchoire pharyngienne. Les Arcs pharyngiens sont les 5èmes arcs branchiaux et se situent donc en position postérieure des arcs branchiaux 1 à 4, surlignées en jaune. B : Représentation schématique latérale du positionnement des arcs pharyngiens par rapports aux éléments crâniens (basé sur une illustration de Sibbing, 1991, et sur des observations personnelles, le schéma présenté ici est une simplification et ne consiste en aucun cas une représentation exhaustive de la morphologie crânienne de *C. eos-neogaeus*). Les Arc pharyngiens sont représentés en rouge et les Arcs Branchiaux en jaune, les mâchoires sont entourées en bleu et la forme externe du poisson est schématisée en gris. Abréviations : k, kinethmoïde ; m, maxillaire ; p, prémaxillaire ; d, dentaire ; ah, arc hyoïdien ; rb, rayons branchiostèges ; cp, ceinture pectorale ; pm, plaque masticatrice.

Les arcs mandibulaires sont hautement modifiés pour la protrusion prémaxillaire, un mécanisme d'alimentation par succion, et possèdent un kinethmoïde : une nouvelle ossification médiane propre à cet ordre (Figure 1.3a). Celui-ci est situé en position rostrale juste à l'arrière des prémaxillaires et y est suspendu via deux paires de ligaments (Staab et Hernandez 2010, Staab *et al.* 2012). Les différences relatives dans la taille et l'organisation des structures composant les arcs mandibulaires vont régir la distance de protrusion et la force de succion et ainsi permettre une alimentation hautement spécialisée entre les différents genres de Cypriniformes (Hernandez *et al.* 2007, Staab *et al.* 2012, Figure 1.3b). Les Cypriniformes sont donc des poissons dont la morphologie, notamment crânienne, peut être très variable. Des variations subtiles au niveau de ces éléments crâniens pourraient jouer un rôle décisif dans le partitionnement des ressources avec les espèces parentales chez les hybrides *C. eos-neogaeus*.

A)



B)

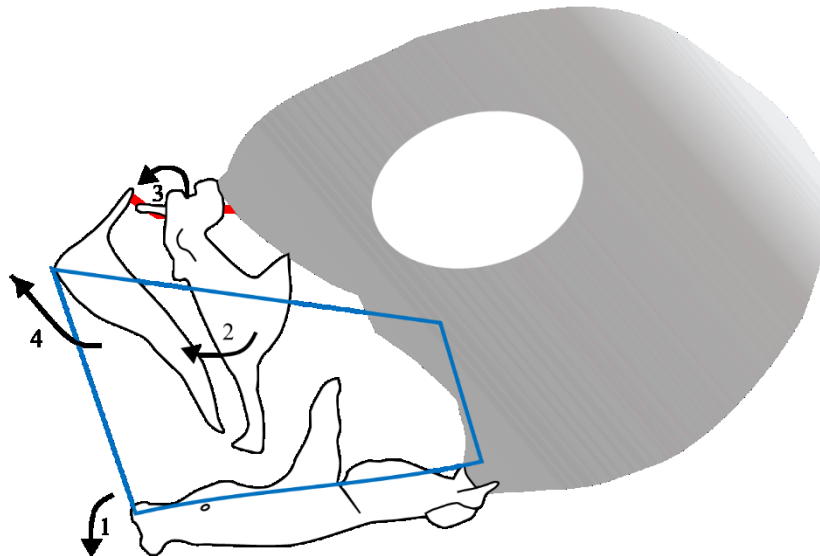


Figure 1.3. Schématisation de la morphologie des mâchoires et de la protrusion prémaxillaire chez *C. eos-neogaeus*. A : Vue latérale des mâchoires en position fermée avec le volume buccal en bleu. B : vue latérale des mâchoires en position de protrusion prémaxillaire avec le cône de succion en bleu. Les mouvements de chaque os pour effectuer la protrusion sont détaillés :1, le dentaire s'affaisse ; 2, le maxillaire est poussé vers l'avant sur le prémaxillaire ; 3, le kinethmoïde effectue une rotation ; 4, le prémaxillaire est projeté vers l'avant et effectue une rotation autour de la position rostrale. Le crâne est schématisé en gris et le ligament intermaxillaire est en rouge. Abréviations : k, kinethmoïde ; m, maxillaire ; p, prémaxillaire ; d, dentaire (Illustrations basées sur des observations personnelles).

1.4. Avancées méthodologiques et technologiques

1.4.1. La morphométrie géométrique

L'analyse de la forme des structures ou objets biologiques est au centre de beaucoup d'études morphologiques et développementales. Traditionnellement, l'analyse de la forme est faite par des mesures de distances et d'angles et l'utilisation de ratios, mais ce type de données ne décrit pas adéquatement la forme d'un objet. Lorsque le nombre de mesures augmente considérablement, les outils et logiciels statistiques ne sont pas tout le temps en mesure de les gérer (Slice 2007).

La morphométrie géométrique est une technique d'analyse de la forme des structures. Elle consiste en l'apposition de points de références (repères, ou *landmarks* en anglais) homologues entre individus à comparer. Une procédure de superposition Procruste généralisée est effectuée sur l'ensemble des coordonnées des points de références afin d'enlever l'information relative à la position et à la taille permettant d'analyser seulement la forme (Mitteroecker et Gunz 2009, Zelditch *et al.* 2012, Gunz et Mitteroecker 2013).

Les repères permettent donc de mesurer la forme des objets, mais imposent cependant une simplification de cette dernière. L'utilisation de semi-repères, des points apposés de manière systématique entre deux (ou plus) repères, vient compléter l'information obtenue via les coordonnées des repères en permettant la description, cette fois-ci, des courbes.

Les semi-repères sont distribués de manière semi-arbitraire et nécessitent des étapes de transformation pour être comparables entre individus. Une procédure de minimisation de l'« énergie de torsion » (*bending energy*, voir Bookstein 1997 et Adams *et al.* 2013b) doit être appliquée pour les interpréter (Adams *et al.* 2013). Cette procédure ajuste les différences de

courbe entre les individus pour minimiser les transformations mathématiques nécessaires pour passer d'une configuration de repères et semi-repères à une autre (Gunz et Mitteroecker 2013).

Récemment les méthodes d'échantillonnages de repères et semi-repères se sont développées et permettent désormais de décrire la forme de modèles tridimensionnels sur ordinateur avec grande précision (Gunz et Mitteroecker 2013). La morphométrie géométrique peut donc être couplée à des méthodologies d'imagerie 3D ce qui ouvre la porte à des études morphologiques plus précises et qui prennent en compte la symétrie et la configuration spatiale des objets.

1.4.2. Micro-tomodensitométrie à rayons X assistée par ordinateur

La microtomodensitométrie assistée par ordinateur (μ -CT) est une méthode d'imagerie basée sur l'utilisation de rayons X et la reconstruction de cartes de densités par ordinateur (Metscher 2009). Cette méthode permet d'obtenir des reconstructions tridimensionnelles dont la résolution spatiale est élevée (jusqu'à 7 μ m de résolution) de tissus internes (Cunningham *et al.* 2014).

Dans le cadre de structures squelettiques, la μ -CT permet ainsi d'obtenir des modèles de squelettes, pour de petits organismes, fidèles à la réalité et qui conservent l'organisation *in situ*. Cette méthode permet d'éviter la dissection et ne présente donc pas de risque d'abimer les spécimens et leurs os (Cunningham *et al.* 2014).

Cette technologie est de plus en plus employée en morpho-anatomie car elle permet l'accès à des structures difficilement dissécables. Lorsque utilisée de pair avec des techniques comme la coloration des tissus à la iode ou au plomb, la μ -CT permet d'observer l'organisation de tissus mous et leur organisation *in situ* (Fernandez *et al.* 2014). La μ -CT est une technologie polyvalente qui permet non seulement d'obtenir des modèles 3D sur ordinateur

qui peuvent être décrits par morphométrie géométrique, mais aussi de mesurer la densité osseuse pour étudier les processus de biominéralisation (Cann 1988).

1.5. Objectifs généraux et prédictions

L'objectif général de ce projet est d'évaluer le rôle des mécanismes de variation morphologique dans la création de différences écologiques entre espèces. Dans le cas des hybrides gynogènes *C. eos-neogaeus*, ceux-ci doivent obligatoirement se retrouver en sympatrie avec les espèces parentales pour se reproduire, ce qui pourrait entraîner de la compétition inter-espèces. En utilisant la microtomodensitométrie et la morphométrie géométrique 3D, la forme de structures fonctionnelles comme les mâchoires pourra être décrite et comparée entre les différents membres du complexe *C. eos-neogaeus*.

Dans un premier temps, il s'agira d'évaluer les différences morphologiques, de variation et développementales (allométrie et intégration morphologique) entre espèces parentales et hybrides au sein du complexe *C. eos-neogaeus*. Les prédictions quant aux différences morphologiques dans le complexe *C. eos-neogaeus*, sont que les espèces parentales présenteront une morphologie différente l'une de l'autre et que les hybrides présenteront un phénotype intermédiaire. L'hypothèse nulle est que les hybrides sont intermédiaires en forme entre les espèces parentales. La première hypothèse alternative est que les hybrides présentent un phénotype similaire à une espèce parentale. S'il y a dominance génétique d'une espèce parentale, la morphologie des hybrides sera plus similaire à cette espèce. La deuxième hypothèse alternative est que les hybrides présentent un phénotype transgressif, donc un phénotype qui n'est pas présenté par les espèces parentales.

Une seconde prédiction est que les hybrides démontreront autant de variation morphologique que les espèces parentales. Les deux hypothèses alternatives sont que les

hybrides démontrent, soit une variation morphologique inférieure aux espèces parentales, soit une variation morphologique supérieure aux espèces parentales.

Finalement, les prédictions initiales quant au développement des membres du complexe sont que les espèces parentales et les hybrides présenteront les même patrons d'allométrie et d'intégration phénotypique.

La plasticité phénotypique de structures fonctionnelles des hybrides *C. eos-neogaeus* sera ensuite discutée dans le chapitre 3. Dans ce contexte, la capacité des différentes lignées à présenter des divergences phénotypiques au niveau de leur morphologie fonctionnelle pourrait jouer un rôle dans le partitionnement des ressources lorsqu'elles se retrouvent en sympatrie.

Chapitre 2 : Innovation through hybridization : morphological and developmental transgressions in the jaws of *Chrosomus eos-neogaeus* clonal fishes

Titre français : Innovation par hybridation : transgressions morphologiques et développementales dans les mâchoires de poissons clonaux.

Titre court : Morphological transgression in clonal hybrids.

Auteurs : Kevin Duclos, Thomas Grünbaum, Miriam Zelditch, Richard Cloutier, Bernard Angers.

Revue visée : EvoDevo (BMC)

Statut de l'article : En préparation, non soumis

Contributions des Auteurs : Kevin Duclos est le premier et le principal auteur de l'article présenté ici. Kevin Duclos a procédé aux étapes d'échantillonnage, numérisation, modélisation, mesures et analyses statistiques. Kevin Duclos est responsable de l'élaboration des protocoles de mesures et de modélisation. Kevin Duclos est de plus responsable pour les illustrations et l'écriture du manuscrit.

La majeure partie de l'échantillonnage a été effectuée par Thomas Grünbaum, de même que la numérisation des spécimens. Thomas Grünbaum est responsable de l'élaboration du protocole de numérisation par micro-tomodensitomètre aux rayons-X.

Miriam Zelditch a aidé Kevin Duclos à élaborer le protocole d'analyses statistiques et a encadré les méthodes de mesure de la forme. Richard Cloutier et Bernard Angers ont prodigué les fonds et le support technique pour la réalisation du projet et ont fait la révision du manuscrit.

Le projet a été développé et conceptualisé de manière conjointe entre Kevin Duclos, Thomas Grünbaum, Richard Cloutier et Bernard Angers.

2.1. Abstract

Closely related species are usually compared on the basis of their trophic traits to discriminate differences in feeding ecology. Morphological and developmental differences between species increase as evolutionary divergence does.

In that respect, hybridization is traditionally seen as a dampening mechanism reducing divergence between populations and creating intermediate forms between parental populations or species. In some rare cases, hybridization produces asexual or clonal offspring populations, in which intermediacy could create competition with both parental species and, in time, the local extinction of one population.

One such example of a clonal hybrid is *Chrosomus eos-neogaeus*, a freshwater fish produced by hybridization events between *C. eos* and *C. neogaeus*. *Chrosomus eos-neogaeus* hybrids are gynogens and have to live with at least one parental species in order to reproduce. We thus investigated phenotypic variation of trophic morphological structures and the developmental processes involved in their shaping within this complex to assess intermediacy and morphological variability within clonal lineages of *C. eos-neogaeus* compared to parental species. Using X-Ray Tomodensitometry methods, the mandibles of specimens were reconstructed. We then computed 3D models and measured shape variation using 3D geometric morphometrics to assess phenotypic variability as well as differences in allometric scaling and phenotypic integration.

Results show that hybrids, without genetic differences, are not simply intermediate in shape but rather display impressive phenotypic variation and novel transgressive phenotypes. Hybrids seem to benefit from increased developmental independence of bones which may in turn improve both phenotypic and ecological lability.

2.2. Background

Generating variation among organisms can be achieved by modulating developmental processes and properties such as morphological integration among traits, heterochrony and allometry (Schillaci *et al.* 2005, Klingenberg 2016). Modifying allometric responses of traits, for instance, can rapidly create variation among organisms as a consequence of differences in trait scaling during growth (Huxley 1932; Bonduriansky and Day 2003, Stillwell *et al.* 2016). Developmental processes such as allometry thus have a definite role in shaping divergence among taxa but become highly canalised and regulated within taxa. This tends to limit morphological variation despite environmental or genetic variation within taxa (Waddington 1942, Zelditch *et al.* 2006, Klingenberg 2016). Canalisation of developmental processes relies on regulatory gene networks (Hallgrímsson *et al.* 2006). These networks can be disrupted when hybridization occurs as genomic co-adaptation is broken (Leary *et al.* 1985, Renaud *et al.* 2009). Hybridization, the natural crossing between genetically divergent lineages was initially regarded as an oddity and a transient phenomenon in animal species (Arnold 1997) but has now come to be regarded as a fairly common occurrence (Burke and Arnold 2001). The fact that hybrid organisms inherit a haplome from different species is problematic as these genomes do not share the same evolutionary history and are seldom co-adapted. The more divergent hybridizing taxa are, the more incompatible their genomes will be, leading to the development of abnormal phenotypes and often result in hybrid sterility (Dowling and Secor 1997, Burke and Arnold 2001). Hybridization has often been depicted as a dampening mechanism slowing divergence between hybridizing taxa (Renaud *et al.* 2009, Renaud 2012).

On the other hand, having inherited genetic material from two different species can also give rise to advantageous phenotypes and can create hybrid vigor and heterosis (Johansen-Moris

and Latta 2006). Hybridization can create genotypes that sometimes outperform parental species in certain environments or can colonize new ones altogether (Arnold 1997).

A growing concern in hybrid biology has been the structure of phenotypic variation within hybridization complexes and how developmental properties such as heterochrony, allometry and morphological integration are affected by hybridization (Renaud et al. 2009). Most of this research shows a tendency for hybrids to be phenotypic intermediates between the two parents (Johansen-Morris and Latta 2006). This work usually relies on traits with high inheritance values in parents (Grant and Grant 1994). However, hybrids can go beyond the range of variation defined by their parents and display new transgressive traits (Nolte and Sheets 2005, Renaud *et al.* 2012). Phenotypic transgression, the capacity to display phenotypes that are not displayed by parental species, is important in creating ecological novelty and creating lineages that become ecologically and, eventually, reproductively distinct from parental strains (Grant and Grant 1994). Hybridization is a mechanism with the potential of creating new evolutionary pathways by the establishment of novel genotypes which in turn are expressed as novel phenotypes because of genomic and epistatic interactions between both parental genomes (Grant and Grant 1994, Rieseberg et al. 2003, Seehausen 2004, Albertson and Kocher 2005).

External morphological traits regroup many elements upon which selection will exert pressures (Cheverud 1982). External morphology for vertebrates is dependent on the organisation of musculature and soft tissues attached to the skeleton (Hall and Larsen 1998). The generalization of imaging technologies such as magnetic resonance imaging or X-ray micro- tomography (μ -CT) allows for morphological studies to focus on the skeleton and its organization *in situ* by offering high spatial resolution and a means to obtain information

without dissection and the risk of breaking skeletal elements (Metscher 2009, Cunningham *et al.* 2014).

Morphological studies have often relied on metric measurements to assess variation within and between groups (Ross and Cavender 1981, Grant and Grant 1994, Doeringsfeld *et al.* 2004). Shape, an important component for the function of different biological systems, is not properly characterised by metric measures (Ricklefs and Miles 1994, Adams *et al.* 2013a, 2013b). Geometric morphometrics, the study of shape, has opened new ways of looking at morphological traits (Zelditch *et al.* 2012, Adams *et al.* 2013a). Recently, Renaud *et al.* (2012) explored phenotypic transgression in rat hybrids (*Mus musculus musculus* X *M. musculus domesticus*). Using two-dimensional geometric morphometrics, they focused on the shape of multiple elements composing the murine mandible. Their work reveals that phenotypic transgression can be attained by the combination of different traits that vary independently while not being transgressive themselves (Renaud *et al.* 2012).

μ -CT scanning and related imaging technologies now open the door for three-dimensional studies as well (Jamniczky *et al.* 2015). Three dimensional geometric morphometric studies have become commonplace but remain mostly confined to landmark rich structures such as murine mandibles or the hominoid scapula (Young 2006, Renaud *et al.* 2012). The recent inclusion of 3D semilandmarks in digitization software allows for much more in depth analysis of complicated and smoother structures (Gunz and Mitteroecker 2013). Three dimensional data had been hard to acquire in the past, especially for curves and surfaces, and has only recently seen an increase in popularity in anthropological research (Slice 2007, Adams *et al.* 2013). Restrictions in the field were more practical than mathematical, as software and

statistical packages can accommodate additional dimensions in the data (Adams *et al.* 2013a, Gunz and Mitteroecker 2013).

The present paper aims to assess morphological variation, phenotypic transgression as well as differences in allometric scaling in hybrids using μ -CT scanning and three dimensional geometric morphometrics. Three dimensional geometric morphometrics was used to describe the shape of different bones composing the jaws within the piscine *Chrosomus eos-neogaeus* complex. The *Chrosomus eos-neogaeus* hybrid is a rare case of clonal hybrid in vertebrates (New 1962; Elder and Schlosser 1995). *C. eos-neogaeus* hybrids offer an ideal model for the study of morphological transgression and development in first generation (F1) hybrids because of the absence of genetic difference among individuals incurred by clonality (Elder and Schlosser 1995). Sexual F1 hybrids cannot be reared without creating genetic variation, therefore a vast portion of the work done on F1 hybrids resorts to syngeneic murine lineages; *C. eos-neogaeus* hybrids offer a naturally occurring alternative (Renaud *et al.* 2009).

Chrosomus is a genus of North-American freshwater minnows belonging to the Cyprinidae (Angers and Schlosser 2007). Two species from this genus: *C. eos*, the Northern redbelly dace, and *C. neogaeus*, the finescale dace, co-occur in various reservoirs (Scott and Crossman 1973, Doeringsfeld *et al.* 2004), where they can hybridize naturally and produce the hybrid biotype *Chrosomus eos-neogaeus* (Elder and Schlosser 1995). Hybrids reproduce gynogenetically: they produce unreduced diploid eggs but the sperm of a host-species (usually *C. eos*, see Mee and Rowe 2010) is required to trigger embryogenesis without being integrated within the egg (Dawley *et al.* 1987, Goddard and Dawley 1990).

Despite the lack of genetic variation, hybrids displayed as much phenotypic variation as parental species (Doeringsfeld *et al.* 2004). *Chrosomus eos-neogaeus* hybrids have been described as being intermediates between parental species in their morphology (Schlosser *et al.* 1998, Doeringsfeld *et al.* 2004). However, in a study involving 11 metric traits, all traits did not display the same level of intermediacy and seemed to vary independently of one another (Doeringsfeld *et al.* 2004).

Intermediate phenotypes involve niche overlap between parental species and hybrids, nonetheless their variation suggests high levels of phenotypic plasticity (Doeringsfeld *et al.* 2004). *Chrosomus eos-neogaeus* hybrids have high levels of epigenetic variation depending on the environment, suggesting they can deal with environmental variation with as much phenotypic variation as parental species do (Massicotte and Angers 2012, Massicotte *et al.* 2014).

Additionally, as numerous Cypriniformes, members of the *Chrosomus eos-neogaeus* complex have highly modified skeletal trophic morphology (Harrington 1955). Since trophic traits are directly involved in the feeding function, their shape is tightly linked to resource exploitation and the ecological niche (Albertson and Kocher 2001, Albertson 2003, Albertson *et al.* 2003). Fine-tuned modifications of the trophic skeleton can lead to very specialised feeding (Rüber and Adams 2001). Cypriniform jaw participates in premaxillary protrusion, a mechanism for suction feeding (Harrington 1955, Hernandez *et al.* 2007). In addition to the premaxillary and the maxillary bones, cypriniforms possess a novel sesamoid ossification positioned medially between the rostrum and the premaxillary called the kinethmoid (Harrington 1955, Hernandez *et al.* 2007, Staab and Hernandez 2010). Subtle changes in the shape, relative size and

organization of mandibular arch elements will dictate protrusion distance as well as suction force, and create highly specialized morphologies (Hernandez *et al.* 2007).

Initial predictions were that parental species will differ in allometric scaling and morphology and that hybrids should display intermediate morphologies for all elements. Covariation patterns between elements within the jaws were expected to be identical for parental species and hybrids because of the functional importance of this system. Finally, following earlier work in the complex (Schlosser *et al.* 1998, Doeringsfeld *et al.* 2004), hybrids are predicted to display as much variation as parental species.

2.3. Material and methods

2.3.1. Specimen sampling and genetic identification

A total of 84 specimens belonging to the *Chrosomus eos-neogaeus* complex were sampled from three sites from Western Quebec. This region contains one common and widespread hybrid lineages (Angers and Schlosser 2007, Vergilino *et al.* 2016). A total of 30 specimens from the parental species *C. eos*, 25 for the parental species *C. neogaeus* and 29 for the B-01 hybrid lineage (Vergilino *et al.* 2016) were collected using minnow traps. Specimens were euthanized with a 10% eugenol solution before being fixed in 95% ethanol. Nuclear DNA was extracted from the caudal fin following a common phenol-chloroform protocol (Sambrook *et al.* 1989). Parental species *C. eos* and *C. neogaeus* and hybrids were identified following procedure described by Binet and Angers 2005.

2.3.2. X-ray Micro-computed tomography and reconstruction

Preserved specimens were imaged using a Skyscan1173 μ CT-Scan (Brucker-MicroCT, 2011, Belgium). All individuals were scanned with constant X-ray microtomograph settings. Settings were as follows: source voltage at 58 kV, source current at 71 μ A, exposure time of 465 ms, 3 averaging frames over 270°, rotation step of 0.44°. Calibration of scanner flatfield was done before each scanning session and flatfield correction was activated. Scans were acquired with no filter, and medium resolution parameters (1080x1080 pixels). The zoom was kept at 17 μ m (bigger specimens of *C. neogaeus* required zoom to be set at 17.7 μ m).²

² - Tomography parameters were selected as they enabled proper visualisation of the skeleton of sampled specimens. Scanner flatfield calibration is the equivalent of doing a blank sample. Flatfield correction was activated to maintain proper contrast between biological tissue and the air in the scanning chamber during image acquisition.

Projection slices were reconstructed with constant parameters using NRecon (Version 1.6.6.0, SkyScan, Brucker-microCT, Belgium). Reconstruction parameters were kept constant: no smoothing and no beam hardening correction.³ Ring artifact correction was kept at 10. Reconstructed volumes were analyzed with the CTAn package (Version 1.11.4.2, SkyScan, Brucker-micro CT, 2011, Belgium) to isolate mandibular elements. A region of interest including only the mandibular elements was manually outlined for each specimen. Data subsets were subsequently converted to the Dicom format and compiled as NIFTI files using MRIconvert (Version 2.0.7, Lewis Center for Neuroimaging, 2013, U.S.) in order to be interpretable as a volume for further analyses.

2.3.3. Geometric morphometric analyses

Landmarks and semilandmarks digitization was performed in Stratovan Checkpoint software (Version 2015.04.18.0347, Stratovan Corporation, 2015, U.S.). A total of 46 landmarks and 100 semilandmarks were used to adequately describe the shape of all jaw elements. Landmarking follows the scheme described in figure 1. The dentary was described by 16 landmarks and 30 semilandmarks, the maxilla by 18 landmarks and 18 semilandmarks, the premaxilla by six

³ - Reconstruction parameters were chosen *ad hoc* as they enable proper reconstitution of skeletal volumes while minimizing artefacts. Beam hardening happens as a consequence of rapid changes in tissue density resulting in 3D cone-like artefacts after reconstruction. Ring artifacts appear as a consequence of a slight misalignment between the flatfield camera receptor and the X-ray source. Upon reconstruction, alternating zones of higher and lower density will be as 3D ring-like artefacts.

landmarks and 28 semilandmarks and the kinethmoid by four landmarks and 26 semilandmarks. Landmark digitization was performed bilaterally.

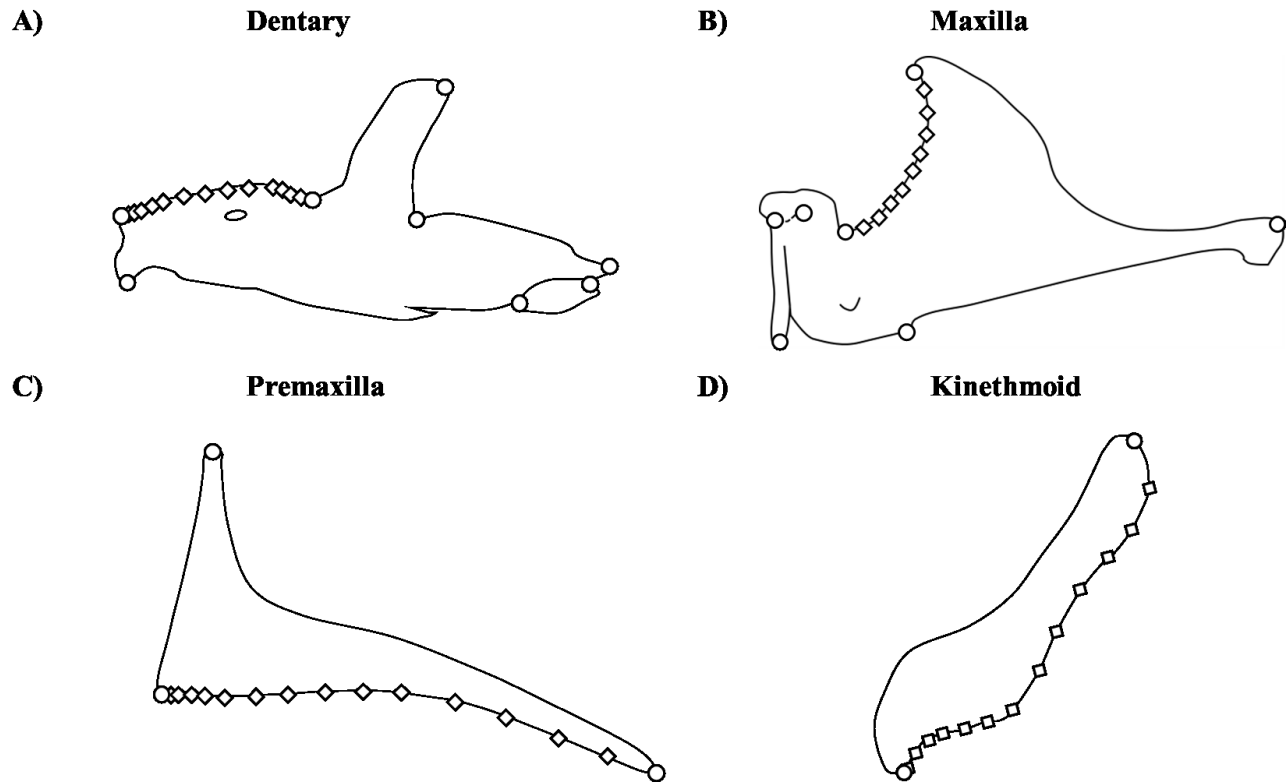


Figure 1. Landmarking schemes for all elements of the jaws. Landmarking schemes for the A: dentary, B: maxilla, C: premaxilla and D: kinethmoid are represented. Circles represent landmark while diamonds represent semilandmarks. Landmark and semilandmark configurations as proposed reflect the consensus shape for each element after generalised Procrustes analysis using the bending energy criterion for semilandmark sliding. Illustrations are based on personal observations of jaw morphology.

Following landmark digitization, datasets were imported into R package Geomorph (Version 3.1, Adams *et al* 2013a) where landmark superimposition was performed using a General Procrustes Analysis (GPA) (Rohlf and Slice 1990). Since the jaw is made up of independent mobile parts, positioning of bones could not be kept constant; GPA was thus performed separately for each bone. As semilandmark distribution and spacing on curves is arbitrary, an additional step called semilandmark sliding is required to remove arbitrary variation (Adams *et al.* 2013b, Gunz and Mitteroecker, 2013). Semilandmark superimposition

was performed using the minimum bending energy criterion as defined by Bookstein (1997). This criterion minimises the bending energy for each shape to the mean shape (Mitteroecker and Gunz; 2009). Minimising bending energy is favored to the alternative, minimizing Procrustes distance, when there is a high number of semilandmarks because for each semilandmark sliding will be constrained by the position of neighboring semilandmarks, thus avoiding that a semilandmark slide past another one or past the endpoints of the described curve (Gunz and Mitteroecker, 2013).

2.3.4. Shape analyses

A between-group Principal Component Analysis (bg-PCA) as implemented in the package Morpho (Schlager 2014) was performed to assess variation within groups and separation between groups. Bg-PCA is an ordination method where the data is projected onto the principal components of the group means (Boulesteix 2005). Bg-PCA was suggested by Mitteroecker and Bookstein (2011) as an alternative method to canonical variation analysis for assessing differences between group means. Differences in shape variation between each biotype were computed by using distance to centroid for each and tested by pairwise multivariate Levene's tests. To assess shape differences among biotypes, a one-way MANOVA and pairwise-t tests were performed taking into account environmental effect.

2.3.5. Size and allometry

Centroid size (Csize) of landmark configurations are calculated as the square root of the summed squared distances between landmarks and their centroid (Zelditch *et al.* 2011, Renaud *et al.* 2012) and as such they can be used as proxy measures of object size for group comparisons.

Csize for each bone was compared between biotypes using a one-way ANOVA and pairwise-t tests.

Finally, we investigated the relationship between shape and size by regressing of shapes on size to see if different biotypes displayed different allometric effects. Allometric differences were evaluated by testing whether allometric linear regressions were parallel. Differences in allometry could influence group differences in shape (Schillaci *et al.* 2005, Klingenberg 2016). Partial least squares analyses were performed to evaluate strength of correlations between bones using both shape and centroid size as variables.

2.3.6. Closeness and transgression

Closeness to parental species and phenotypic transgression in hybrids were measured based on the methodology used by Renaud et al (2012). Closeness to parental species was measured by assessing the difference in the distance between hybrids and paternal species *C. eos* (dEH) and the average distance between hybrids and both parental species, *C. eos* and *C. neogaeus* (dNH) expressed as a percentage of the average distance between hybrids and both parental species (Closeness level = $\frac{((dEH + dNH)/2) - dEH}{((dEH + dNH)/2)} * 100$). Positive values indicate that hybrids are closer to paternal species *C. eos* and negative values indicate that they are closer to maternal species *C. neogaeus*.

Phenotypic transgression was assessed as the degree to which overall distance between hybrids and parental species (dEH and dNH) differed from the distance between parental species (dEN), expressed as a percentage of the distance between parental species (Transgression level = $\frac{(dEH + dNH) - dEN}{dEN} * 100$). This evaluation of transgression stems from the idea that strictly intermediate hybrids will be at equal distance between both parental species and, thus, that the sum of distances between hybrids and each parental species will be equal to the distance

between parental species. Hence, under strict intermediacy: $d_{EH}+d_{NH} = d_{EN}$ and $d_{EH}=d_{NH}$. Consensus shapes for each group were used to measure closeness and transgression.

However, we depart from definitions of intermediacy and transgression by Renaud et al. (2012) in three ways because these definitions are better suited for additive traits, as described in Burke and Arnold (2001) and Grant and Grant (1994), and/ or metrics traits that are distributed along an axis, rather than shape traits.

We defined intermediacy as the phenotypes of hybrids being distributed along the axis of variation between parental species without exceeding parental values either way, so hybrids were still considered intermediates even when the distance between hybrids and parental species were not equal. Closeness to parents was measured but dominance was only inferred when the group means of hybrids and either parental species were not significantly different.

Finally, we defined phenotypic transgression not as departure from strict intermediacy but as phenotypes being distributed outside the axis of variation between parental species. This implies that the direction of the vectors from the mean shape of one parental species to the mean shape of hybrids (we used the vector from the mean shape of *C. neogaeus* to mean shape of hybrids, v_{N-H}) is significantly different from the direction of the vector from the mean shape of the same parental species to the mean shape of the other one (v_{N-E}). In other words, transgression was only inferred if these vectors were not collinear. This was assessed using two methods.

To test if the angle between the vectors from the group means of *C. eos* to hybrids and from *C. eos* to *C. neogaeus* was significantly different from 0, we used trajectory analysis as implemented in geomorph (Collyer and Adams 2013, Adams *et al.* 2014). To test if the direction of the same vectors were significantly different in shape space, we used the vector permutation

(permuvec) function as implemented in R package Morpho (Schlager 2014). All measures of phenotypic transgression and closeness were calculated for each bone independently.

2.4. Results

2.4.1. Morphological variation within the *C. eos-neogaeus* complex

Results of bg-PCAs on morphological variation among biotypes are reported in Figure 2. Parental species trophic morphology is significantly different for all four structures studied (Table 1). However, a small amount of phenotypic overlapping is found between parental species *C. eos* and *C. neogaeus* for the kinethmoid (figure 2.C). *Chrosomus eos-neogaeus* hybrids appeared to differentiate from both parental species. Some overlap between hybrids and parental species is present. Phenotypic overlap with both parental species is particularly evident for the premaxilla as hybrids and *C. neogaeus* overlap completely on the first axis, which represents 94.02% of the observed variation (Figure 2.A).

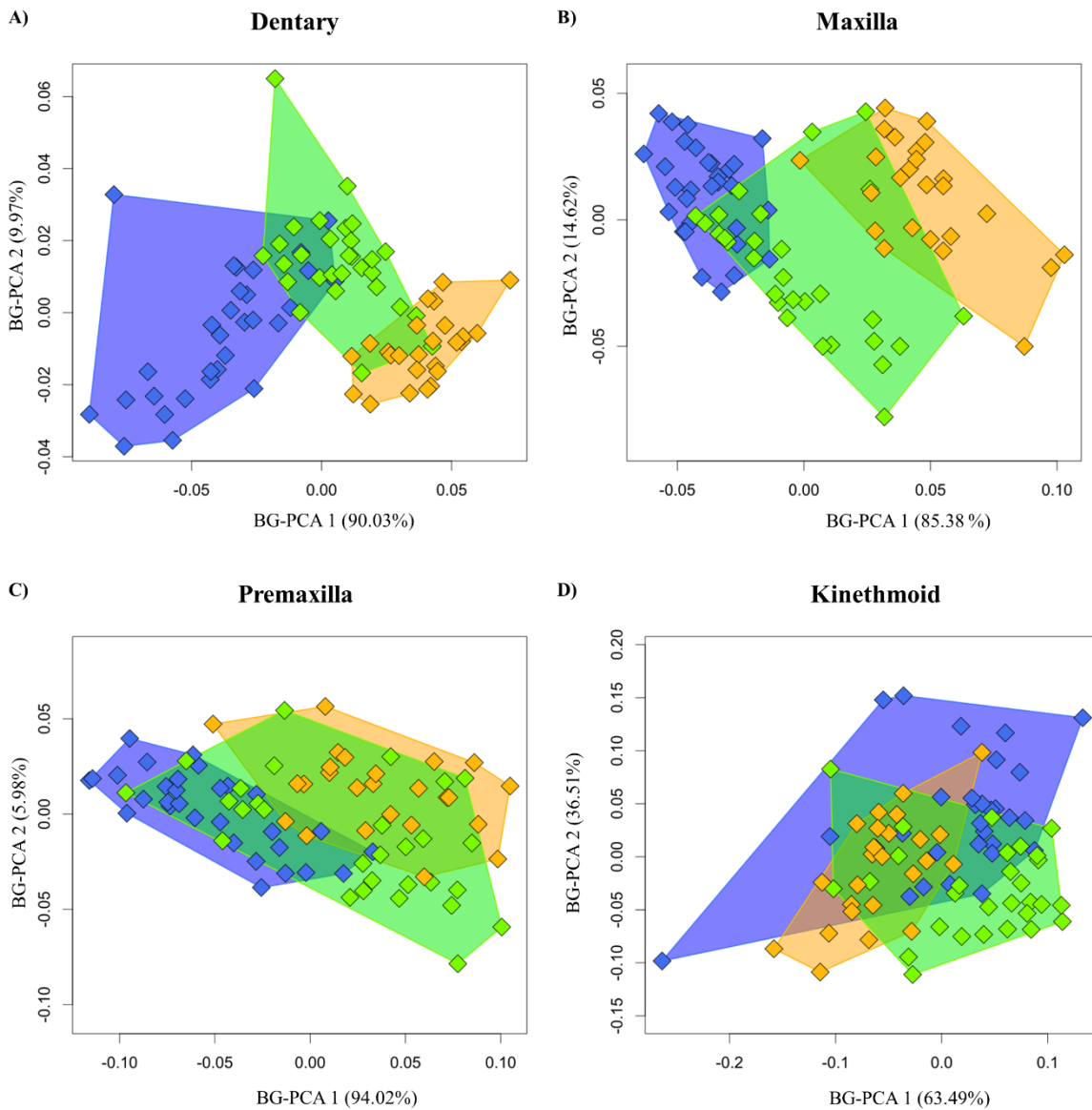


Figure 2. Shape variation between parental species and *C. eos-neogaeus* hybrids. Shape variation in the complex is represented by bg-PCAs for A: the dentary, B: the maxilla, C: the premaxilla, D: the kinethmoid. Specimens scores on both bg-PCA axes are represented by blue, golden and green diamons for *C. eos*, *C. neogaeus* and hybrids respectively. Convex hulls were drawn to better show overlap and overall phenotypic variation.

Pairwise distances between hybrids and both parental species, *C. eos* (E-H) and *C. neogaeus* (H-N) distance are significant for the dentary (E-H p-value = 0.001, H-N p-value = 0.005), maxilla (E-H p-value = 0.001, H-N p-value = 0.001) and kinethmoid (E-H p-value = 0.011, H-N p-value = 0.001) bones. The premaxilla is significantly different between *C. eos* and

hybrids (E-H pvalue = 0.001), however the null hypothesis of equal means in shape for hybrids and *C. neogaeus* for the premaxilla can not be rejected (H-N p-value = 0.71) (Table 1). Hybrids thus seem to exhibit shapes similar to that of parental species *C. neogaeus* for the premaxilla.

Table 1. Pairwise comparisons for shape between biotypes. Values shown are the p-values for pairwise differences between biotypes calculated using pairwise t tests. Pairwise differences were tested for all jaw elements and paired groups are abbreviated as follows: E-H, *C. eos* and hybrids; E-N, *C. eos* and *C. neogaeus*; H-N, hybrids and *C. neogaeus*. P-values in bold are significant.

GROUP:	E-H	E-N	H-N
Dentary	0.001	0.001	0.005
Maxilla	0.001	0.001	0.001
Premaxilla	0.001	0.008	0.71
Kinethmoid	0.011	0.011	0.001

Hybrids display as much phenotypic variation as parental species for each of the trophic skeletal elements (Figure 3.). Multivariate Levene’s tests for variance differences among groups yield non-significant results among biotypes for the dentary, maxilla and kinethmoid, suggesting that clonal hybrids are as variable as parental species for these elements. Variance in premaxilla shape is significantly different between hybrids and both parental species. Hybrids display a larger average distance to centroid, indicating more phenotypic variation in hybrids than the two parental species for the premaxilla.

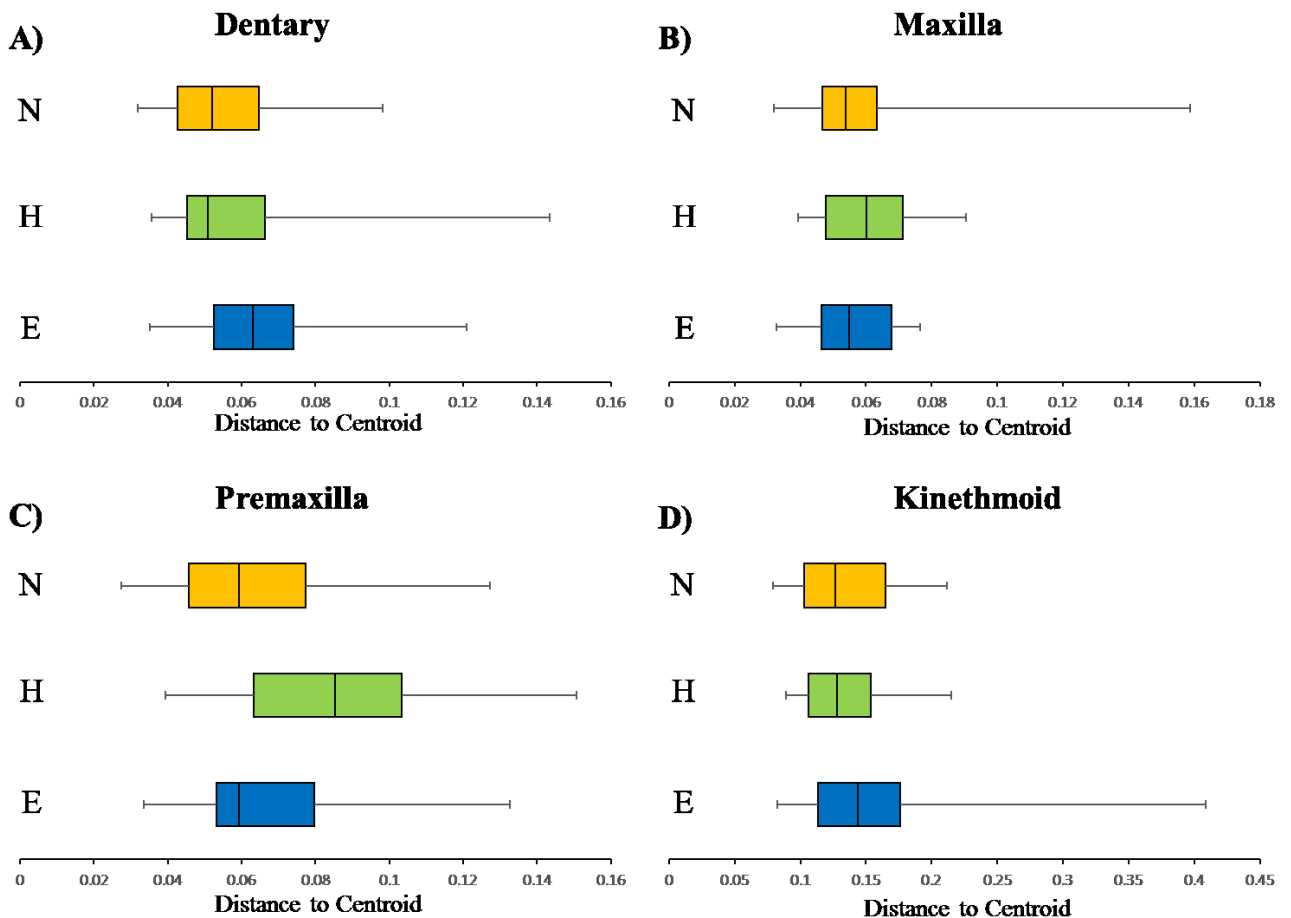


Figure 3. Shape variance of parental species and clonal hybrids Shape variation and distribution per biotype is shown for A : the dentary, B : the maxilla, C : the premaxilla and D : the kinethmoids using specimen distance to centroid. Abbreviations: E, *C. eos*; H, *C. eos-neogaeus* hybrids; N, *C. neogaeus*.

2.4.2. Allometric variation and trait interactions

Hybrids trophic elements are intermediate in size compared to each parental species, except for the kinethmoid where hybrids are more similar in size with *C. eos* (supplementary table 3). However, these elements display more size variation than those of parental species. *Chrosomus eos* displays the least variation for that character for all structures and is on average the smallest biotype. *Chrosomus neogaeus* is the largest biotype for all structures measured. These results are congruent with previous studies showing that *C. eos-neogaeus* was intermediate in standard size and size of other traits. It is important to note that while hybrids display more size variation than parental species, hybrids do not exceed parental species maxima and minima (either bigger than *C. neogaeus* or smaller than *C. eos*). This suggests that there are no heterotic effects on size within this particular lineage.

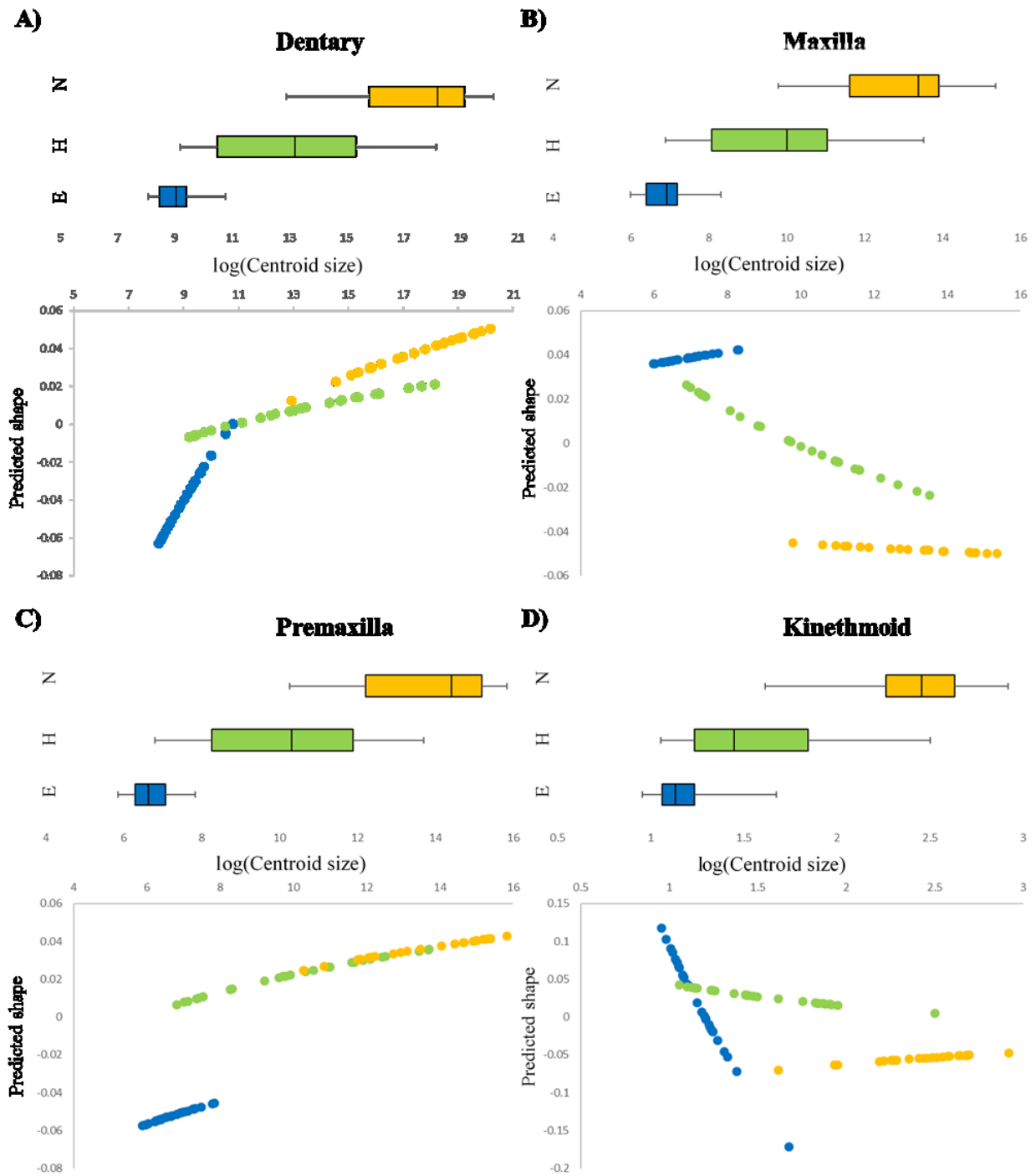


Figure 4. Size variation and predicted allometric scaling of parental species and *C. eos-neogaeus* hybrids. Boxplots for log(Csize) and scatterplots for Predicted shape as a function of log(Csize) are plotted for A: the dentary, B: the maxilla, C: the premaxilla and D: the kinethmoid. Predicted shape is calculated and compounded out of all shape principal components. Colors represent biotypes with blue, green and golden representing *C. eos*, hybrids and *C. neogaeus* respectively. Abbreviations: E, *C. eos*; H, hybrids; N, *C. neogaeus*.

Differences in allometric regressions per skeletal element for each biotype are plotted in figure 4. Allometric effects are significant for all structures. The effect of biotype on allometric regression is significant and regression slopes parallelism is successfully rejected for the dentary, the maxilla and the kinethmoid on $\alpha=0.05$ criterion.

Regression slope parallelism can not be rejected for the premaxilla. In addition, the regression slopes for *C. neogaeus* and hybrids are collinear, indicating that, for equal sizes, premaxilla shape will be the same for *C. neogaeus* and hybrids.

Two-block partial least squares analysis tests strength and significance of interactions between bones. Bone sizes are significantly correlated between each bone pair for all biotypes (Table 2). However, *C. eos* displays weaker size correlations overall than both hybrids ($r>0.906$) and *C. neogaeus* ($r>0.912$).

For shape correlations between bones, parental species display different patterns. The dentary is significantly and strongly correlated with both the maxilla and the premaxilla for both species. *Chrosomus neogaeus* displays significant correlations between the premaxilla and the maxilla (p-value= 0.001, $r= 0.849759$) while *C. eos* does not. On the other hand, *C. eos* premaxilla and kinethmoid shapes are significantly correlated, albeit a weak correlation (0.665298), while *C. neogaeus* does not display this correlation.

Clonal hybrids display the same shape correlation pattern as *C. neogaeus*, suggesting a dominance-like pattern for interaction between traits. Hybrids display a weaker correlation between the dentary and the maxilla than both parental species (0.703048). Both hybrids and *C. neogaeus* do not display any significant shape correlation between the kinethmoid and any other bone, suggesting this bone is less restricted in shape by the other elements composing the mandibles for these two biotypes.

Table 2. Morphological integration of the jaws within the *C. eos-neogaeus* complex. Morphological integration was evaluated using partial least squares regressions between structures using shape and centroid size as variables. Significant p-values are in bold. Abbreviations: r, partial least squares regression coefficient; p, p-value for partial least squares regressions.

Biotype		<i>C. eos</i>		Hybrids		<i>C. neogaeus</i>	
		r	p	r	p	r	p
Dentary/ Premaxilla	shape	0.824506	0.001	0.907369	0.001	0.857687	0.001
	size	0.924979	0.001	0.988733	0.001	0.979491	0.001
Dentary/ Maxilla	shape	0.827795	0.001	0.703048	0.018	0.826787	0.001
	size	0.944127	0.001	0.985502	0.001	0.974924	0.001
Dentary/ Kinethmoid	shape	0.583861	0.259	0.613732	0.399	0.596749	0.517
	size	0.632803	0.001	0.933027	0.001	0.943785	0.001
Premaxilla/ Maxillary	shape	0.602484	0.414	0.799421	0.001	0.848759	0.001
	size	0.879315	0.001	0.982594	0.001	0.953906	0.001
Premaxilla/ Kinethmoid	shape	0.665298	0.011	0.586538	0.315	0.574884	0.612
	size	0.688116	0.001	0.906103	0.001	0.912832	0.001
Maxilla/ Kinethmoid	shape	0.698127	0.088	0.656189	0.119	0.717652	0.305
	size	0.731025	0.001	0.924713	0.001	0.917405	0.001

2.4.3. Closeness and transgression

Phenotypic transgression and closeness of hybrids for each structure is illustrated in figure 5. The dentary of hybrids is more similar to *C. neogaeus* (C-level = -11.35%) but both biotypes were significantly different (H-N p-value=0.005) (figure 2.A, Table 1.). Transgression level is fairly low (T-level = 15.89%) and results from the trajectory analysis and vector permutation functions fail to reject collinearity between vN-H and vN-E.

Hybrids display a premaxilla that is similar in shape to *C. neogaeus* as revealed by the pairwise tests (Table 1). Transgression level is 14.18% and closeness to *C. neogaeus* is 35.93%

(C-level = -35.93%). Results of the trajectory analysis and vector permutation functions are negative; transgression is thus not significant.

On the other hand, both the maxilla and the kinethmoid of hybrids are transgressive in shape. Colinearity between the vN-H and vN-E vectors is significantly rejected for both structures by the trajectory analysis and vector permutation functions (supplementary table 5.). Transgression levels are 22.57% and 118.61% for the maxilla and kinethmoid respectively. The value of transgression for the kinethmoid suggests that the average hybrid phenotype is more different from intermediacy than both parental species are from one another.

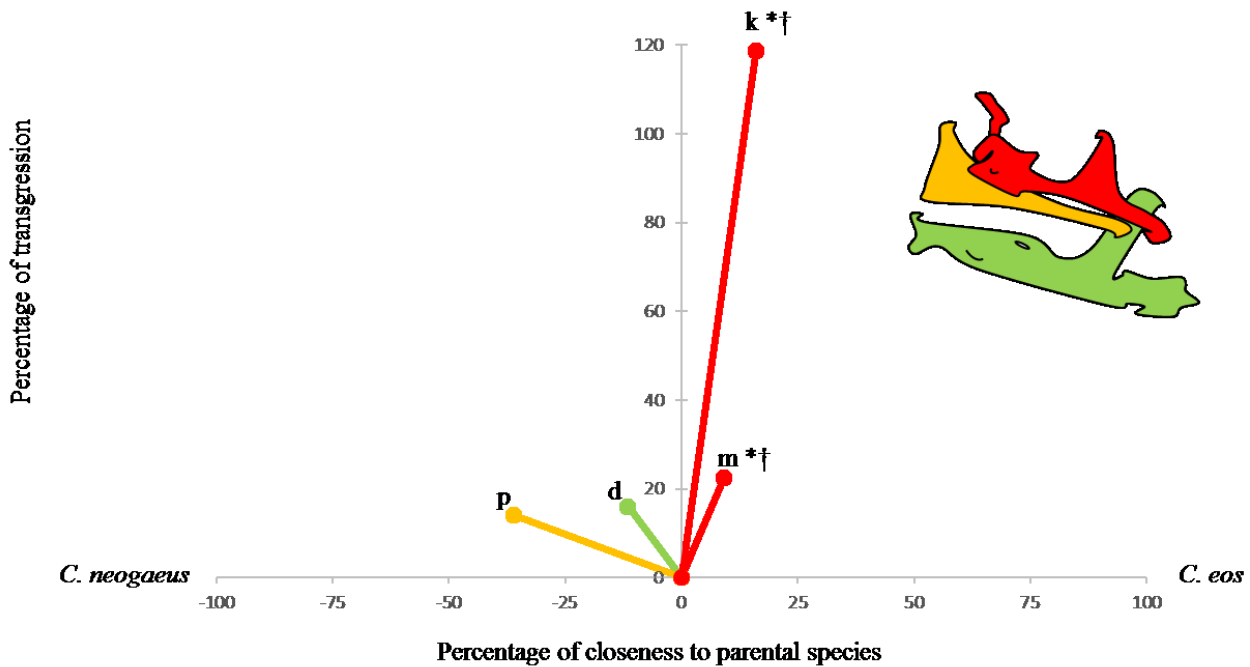


Figure 5. Phenotypic transgression and similarity to parental species in *C. eos neogaeus* hybrids. Percentages for transgression and closeness to parental species for each jaw element was measured and plotted. Positive values for closeness indicate a tendency for structures to be more similar to *C. eos*, and negative values indicate the tendency to be more similar to *C. neogaeus*. Golden, green and red respectively indicate that a structure is closer to *C. neogaeus*, intermediate or transgressive. *: p-value for trajectory analysis < 0.05. †: p-value for vector permutations < 0.05. Abbreviations: d, dentary; m, maxilla; p, premaxilla; k, kinethmoid.

2.5. Discussion

Hybridization is now recognized as a mechanism capable of creating novelty, both morphologically and ecologically (Grant and Grant 1994, Arnold and Burke 2001). Its role on developmental processes has been investigated, but mostly studied relying on inbred lineages to control for genetic variation (Auffray *et al.* 1996, Renaud *et al.* 2009, Renaud 2012). The *C. eos-neogaeus* complex offers naturally occurring clonal hybrids and, thus, the possibility of assessing functional changes brought about by hybridization.

In the present paper, morphological variation, allometric scaling and phenotypic transgression in *C. eos-neogaeus* hybrids were investigated using 3D geometric morphometrics to describe the shape of skeletal elements of the mandibles.

2.5.1. Patterns of phenotypic dominance, transgression and variation in *C. eos-neogaeus* hybrids

Our results show no heterotic effect for centroid size for any of the analyzed elements, and hybrids are intermediate in this respect. These results are congruent with previous work by Doeringsfeld *et al.* (2004) and Schlosser *et al.* (1998) which showed hybrids were intermediate in standard size and various related traits. However, while all analysed elements are intermediate in size in our model, only the dentary bone was intermediate in shape.

Intermediacy is usually expected of hybrids because of simple additive models that imply equal effects of parental genes. However, shape is not additive in nature, but rather the result of multigenic interactions during development. All elements within the mandibles thus had different responses to hybridization as a result of these complex multigenic interactions.

On the other hand, hybrids have been described as being more similar to a given parental species than the other. When that is the case, one parent's alleles are dominant over the

alleles of the other (Heslop -Harrison 1990). In the case of *C. eos-neogaeus* hybrids, results concerning the shape of the premaxilla suggest dominance of parental species *C. neogaeus* for that bone, and in no other bones. Nonetheless, dominance of *C. neogaeus* for the premaxilla must be inferred with caution, as hybrids displayed high levels of variation and were not 100% similar to *C. neogaeus*.

Both the maxillary and kinethmoid were significantly transgressive and, thus, exceed the range of variation of both parental species. Phenotypic transgression is usually the results of genetic recombination and transgressive segregation in second generation hybrids. Second generation hybrids do not exist, since *C. eos-neogaeus* hybrids reproduce gynogenetically, thus phenotypic transgression is unexpected. The shapes of the maxilla and kinethmoid are complex traits; interactions between parental genomes might yield an overall transgressive shape while smaller subunits might be more intermediate or parental in nature as suggested by Renaud et al (2012).

Nevertheless, both the maxilla and kinethmoid are transgressive in shape. The overall morphology of the mandibles of hybrids is defined by all four elements, of which one is intermediate, one more similar to *C. neogaeus* and two are transgressive. The sum of all these parts results in mandibles that are transgressive in shape when compared to parental species. Clonal *C. eos-neogaeus* hybrids are thus not limited to intermediacy, but rather exhibit a new range of phenotypes that are transgressive compared to parental species.

In addition to displaying phenotypic transgression, phenotypic variation was as high for hybrids as for parental species (figure 3.). Hybrids even displayed higher average distance to centroid for the kinethmoid than either parental species (figure3.C, supplementary table 2.). Recent work on the *C. eos-neogaeus* complex has shown that different hybrid lineages, despite

being clonal, did display a lot of phenotypic variation and that their variability was linked to variation in DNA methylation patterns (Massicote and Angers 2012). Epigenetics have been proposed to increase the range of variation in hybrid organisms by enabling hybrids to silence or express genes from one parental species or the other (Peaston and Whitelaw 2006).

2.5.2. Developmental and mosaic responses to hybridization

Hybridization can lead to new morphological variation (Grant and Grant 1994, Renaud *et al.* 2012) and in the case of *C. eos-neogaeus* has yielded a transgressive morphology for the mandibles with each element displaying its own morphological response to hybridization. Shape was different between all biotypes for the dentary, maxilla and kinethmoid, suggesting developmental differences in hybrids.

Indeed, in addition to morphological differences, hybrids displayed impressive differences with parental species in allometric scaling within the mandibles. Allometric responses in hybrids were significantly different from parental species for the dentary, the maxilla and the kinethmoid. Both the maxilla and kinethmoid displayed transgressive phenotypes and it appears a change in allometry could play a role in shaping variation that is unseen in parental species.

Allometric scaling, and changes therein, play a role in creating morphological diversity as a consequence of growth and could thus allow for more variation than would be expected from a single genotype (Pavlicev *et al* 2008). Morphological innovations through developmental processes such as allometry are essential to create ecological diversification while remaining similar to host-species, so as to not impede reproduction (Rodman 1979, Mee 2014).

Hybrids exhibit phenotypes similar to that of parental species *C. neogaeus* for the premaxilla. Moreover, all biotypes display parallel allometric slopes for this element, indicating

strong canalisation of allometry for the premaxilla within the complex. Interestingly this canalisation was absent from the other structures and variation incurred by allometry in these structures could affect the overall performance of the mandibles by changing mechanical interactions.

Overall, the mandibles of *Chrosomus eos-neogaeus* hybrids are a mosaic of phenotypes with each bone displaying either intermediate, transgressive or parental phenotypes. Each bone was not entirely independent, however, as they were all significantly correlated in size and the maxilla, premaxilla and dentary were all correlated in shape. Correlations between morphological systems are a measure of integration (Zelditch *et al.* 2006). Thus the maxilla, premaxilla and dentary appear to be integrated in *C. eos-neogaeus* hybrids. Size integration between all bones is expected because the mandibles are a functional system involved in the feeding function (Staab *et al.* 2012). Loss of integration within the system could impact functionality drastically. Notwithstanding, at least in shape, the kinethmoid seemed to be independent from the other bones, therefore allowing more variability. This result is surprising, given the strong integration in size of the kinethmoid and the other elements, and suggests that, for the kinethmoid, size is more affected than shape by the functional demands of the mandibles. Increased independence of the kinethmoid was also the case for *C. neogaeus*, suggesting that variation in kinethmoid shape does not impact proper function while still potentially influencing performance.

Strong integration between the maxilla, premaxilla and dentary is more than a functional consequence and potentially results from sharing a developmental and evolutionary origin (Cubbage and Mabee 1996). The kinethmoid, on the other hand, is a median sesamoid ossification of recent evolutionary origin (Cubbage and Mabee 1996). It arises within the

intermaxillary ligament in the olfactory region, whereas the maxilla, premaxilla and dentary are dermal bones (Cubbage and Mabee 1996).

2.5.3. Does morphological transgression mean ecological transgression?

The feeding mechanism in Cypriniformes consists primarily in premaxillary protrusion. Its efficiency and specificity are tightly linked to the shape of mandibular bones and how they are spatially organized (Staab *et al.* 2012). During feeding, the maxilla is pushed forward and exerts pressure on the premaxilla, propelling it forward. The kinethmoid, which is attached within ligaments between the rostrum and the anterodorsal process of the premaxilla, acts as a trebuchet and rotates up to 180 degrees (Staab *et al.* 2012). The kinethmoid controls both the speed and the amplitude of premaxillary protrusion (Staab *et al.* 2012).

The kinethmoid displays a transgressive phenotype for shape in *C. eos-neogaeus* hybrids and benefits from high variability. Mechanical aspects such as speed of premaxillary protrusion will directly be affected by this transgressive new phenotypes because of the central role of the kinethmoid; function of the system will be different between hybrids and parental species.

The dentary of *C. eos-neogaeus* hybrids was intermediate in shape to parental species. The dentary has no active role during protrusion (Motta 1984). However, its shape, size and relative position will influence the volume of the buccal cavity and, as such, the dentary plays an indirect role in delimiting the volume of the suction cone during premaxilla protrusion (Motta 1984, Staab *et al.* 2012).

Suction strength is proportional to buccal volume and inversely proportional to gape (Staab *et al.* 2012). The shape and size of the premaxilla will influence gape (Schlosser *et al.* 1997, Staab *et al.* 2012). Hybrids exhibit phenotypes similar to that of parental species *C. neogaeus* for the premaxilla.

The maxilla of hybrids was significantly transgressive in shape. The shape of the maxilla was also strongly correlated to the shape of the premaxilla and the dentary for this biotype. Phenotypic transgression of this bone could be a consequence of phenotypic changes in the other elements of the mandibles. Shape transgression in the maxilla could how and where it will exert pressure on the premaxilla. This issue could be addressed by using a more mechanical approach (see Gidmark *et al.* 2012).

Present results are insufficient to describe how functionality is impacted by morphological differences. Despite this, modifications of the mandibles in hybrids are important and will impact their function and, by extension, the trophic niche of the organism. Sperm-dependent hybrids have to live with at least one parental species in order to reproduce (Elder and Schlosser 1995, Mee and Rowe 2010). This incurs additional problems, such as resource competition and phenotypic host-matching in order to reproduce (Mee 2014). In the context of obligatory co-occurrence, developmental changes and phenotypic transgression, such as displayed by *C. eos-neogaeus* hybrids, can lead to functional and ecological differences between parental species and hybrids and thus alleviate competition (Vrijenhoek 1979, 1984a, 1984b, Mee 2014).

2.5.4. Conclusion

The mandibles are known to display novelty across Cypriniforme taxa (Hernandez *et al.* 2007, Britz *et al.* 2009). The functional role and complexity of this system make it an ideal model to investigate phenotypic innovation in hybrids. So far, it has garnered little attention in studies of morphological variation, in part because of the lack of readily identifiable landmarks. Our results indicate this system can be described accurately within the *C. eos-neogaeus* complex and in other Cypriniformes by using current imaging technologies.

Within the *C. eos-neogaeus* complex, clonal hybrids display morphological variation that is on par with that of sexual parental species and different patterns of allometric scaling, resulting in phenotypic mosaicism of complex functional structures such as the Cypriniforme mandibles.

This mosaicism enabled more variability and the creation of novel, transgressive phenotypes. Transgressive phenotypes emerging as the result of modified developmental processes in hybrids could result in ecological differences between hybrids and their parental taxa, and could thus be crucial in explaining co-occurrence of asexual hybrids and parental taxa.

2.6. Supplementary data

Supplementary Table 1. Effect of biotype on shape and pairwise shape comparisons in the *C. eos-neogaeus* complex. Statistical significance of biotype effect on shape was calculated using a one-way MANOVA. Biotypes were compared two-by-two using multivariate t tests. Abbreviations: E-H, *C. eos* and hybrids; E-N, *C. eos* and *C. neogaeus*; H-N, hybrids and *C. neogaeus*. P-values in bold are significant.

	Dentary	Maxilla	Premaxilla	Kinethmoid
MANOVA results:	0.001	0.001	0.001	0.001
Pairwise differences:				
E-H	0.001	0.001	0.001	0.011
H-N	0.005	0.001	0.71	0.001
E-N	0.001	0.001	0.008	0.011

Supplementary Table 2. Differences in shape variation within the *C. eos-neogaeus* complex. Tuckey Tests on mean distance to centroid per group were performed to assess differences in shape variation between hybrids and parentals species. Differences in mean distance to centroid (Diff) were calculated as well as adjusted P-values (Adj. P). Abbreviations: E-H, *C. eos* and hybrids; E-N, *C. eos* and *C. neogaeus*; H-N, hybrids and *C. neogaeus*. P-values in bold are significant.

Group	Dentary		Maxilla		Premaxilla		Kinethmoid	
	Diff	Adj. P	Diff	Adj. P	Diff	Adj. P	Diff	Adj. P
E-H	0.0057	0.47656	0.00451	0.63133	0.01749	0.02577	0.01967	0.27569
E-N	0.0094	0.15889	0.00691	0.37265	0.0041	0.81508	0.01889	0.33209
H-N	0.0037	0.74853	0.00239	0.88847	0.0216	0.00667	0.00077	0.99812

Supplementary Table 3. Effect of biotype on Csize and pairwise Csize comparisons in the *C. eos-neogaeus* complex. Statistical significance of biotype effect on Csize was calculated using a one-way ANOVA. Biotypes were compared two-by-two using t tests. E-H, *C. eos* and hybrids; E-N, *C. eos* and *C. neogaeus*; H-N, hybrids and *C. neogaeus*. P-values in bold are significant.

	Dentary	Maxilla	Premaxilla	Kinethmoid
ANOVA results:	0.001	0.001	0.001	0.001
Pairwise differences:				
E-H	0.001	0.001	0.001	0.063
H-N	0.005	0.004	0.005	0.001
E-N	0.001	0.001	0.008	0.001

Supplementary Table 4. MANOVA table for shape regression on Csize. Linear regressions of shape on log(Csize) were computed for each element of the jaws. Slopes were compared and tested using MANOVA to test for a per group allometry. The overall effect of log(Csize), biotype and the interaction of the two was tested using MANOVAs. Significant values are in bold.

	Dentary	Maxilla	Premaxilla	Kinethmoid
Slope parallelism hypothesis:	rejected	rejected	supported	rejected
Group allometries	0.002	0.032	0.148	0.002
Log(Csize)	0.002	0.002	0.002	0.002
Biotype	0.008	0.002	0.048	0.002
Log(Csize):biotype	0.028	0.426	N/A	0.22

Supplementary Table 5. Transgression and similarity to parental species. Closeness to parental species were computed for each jaw element for *C. eos-neogaeus* hybrids. Vector permutation and trajectory analysis was used to test for significance of transgression. Vector permutation and trajectory analysis results are expressed as p-values. Significant values are in bold.

	Dentary	Maxilla	Premaxilla	Kinethmoid
Closeness to parental species (%)	- 11.344908	- 9.156128	- 35.934389	- 16.068884
Transgression (%)	15.886720	22.567910	14.184870	118.615690
Vector permutation	0.102	0.001	0.341	0.003
Trajectory analysis	0.084	0.010	0.324	0.014

Chapitre 3 : Discussion

3.1. Retour sur les objectifs

L'objectif général de ce projet était d'évaluer le rôle des mécanismes de variation morphologique dans la création de différences écologiques entre espèces. Des techniques de microtomodensitométrie et de morphométrie géométrique 3D furent utilisées pour décrire et comparer la forme des éléments constituant les mâchoires des différents biotypes du complexe d'hybridation *C. eos-neogaeus*. Les différences morphologiques entre espèces parentales et hybrides ont donc pu être mesurées et les mécanismes de variations morphologiques dans le complexe ont pu être inférés.

L'hybridation est un mécanisme capable de produire des génotypes nouveaux dont la trajectoire évolutive sera distincte de celle des espèces parentales, c'est donc un mécanisme capable d'engendrer de la nouveauté phénotypique et écologique (Grant et Grant 1994). C'est aussi un mécanisme qui a mené à la production de lignées asexuées chez les vertébrés (Grant et Grant 1994). Les hybrides gynogènes *C. eos-neogaeus* sont un exemple de vertébrés asexués provenant d'un évènement d'hybridation et sont un modèle idéal pour étudier les mécanismes de variation et d'innovation phénotypique (Elder et Schlosser 1995, Angers et Schlosser 1997). Les hybrides gynogènes *C. eos-neogaeus* doivent obligatoirement se retrouver en sympatrie avec les espèces parentales, des différences de morphologie fonctionnelle pourraient donc entraîner des différences écologiques limitant la compétition entre les hybrides et les espèces parentales (Mee *et al.* 2013).

Les prédictions initiales du projet étaient que les hybrides auraient des tendances morphologiques intermédiaires tout en étant significativement différent des espèces parentales.

Cependant, les résultats du chapitre 2 impliquent que la variation phénotypique des hybrides *C. eos-neogaeus* n'est pas entièrement intermédiaire ; que ceux-ci peuvent montrer des phénotypes soit parentaux soit transgressifs. De plus, les hybrides présentent des différences avec les espèces parentales dans leur allométrie et leurs patrons d'intégration morphologique.

Le présent chapitre effectue donc un retour sur les résultats afin de les situer dans un contexte plus large. Le rôle de la variation morphologie et le potentiel de plasticité phénotypique seront aussi discutés.

3.2. Variations morphologiques et développementales chez les hybrides *C. eos-neogaeus*

Il est généralement attendu que des hybrides démontrent un phénotype intermédiaire aux espèces parentales (Grant et Grant 1994). Cependant, tel que discuté dans le chapitre précédent, ces attentes reposent sur des modèles additifs qui conviennent mieux à des traits linéaires tels que la taille (Gilbert 1961, Grant et Grant 1994, Renaud *et al.* 2012).

Lorsque la taille de chacun des éléments des mâchoires est comparée entre les hybrides et les espèces parentales, le dentaire, le maxillaire, le prémaxillaire et le kinethmoïde sont effectivement intermédiaires. Au niveau de la taille, on note donc une absence d'effet hétérotique : les hybrides ne dépassent pas la valeur maximale de taille démontrée par les parents (l'espèce la plus large étant *C. neogaeus*). Ces résultats coïncident avec les études précédentes sur le complexe qui montraient une tendance générale des hybrides à être intermédiaire dans différentes longueurs (Schlosser *et al.* 1998, Doeringsfeld 2004).

Les résultats présentés ici montrent aussi une importante variance de la taille dans chacune des structures étudiées. Cette observation a déjà été faite par Doeringsfeld *et al.* (2005) et illustre le potentiel de variation important des hybrides clonaux du complexe *C. eos-neogaeus*.

Cependant la variance en taille de chacune des structures étudiées était plus élevée pour les hybrides que les espèces parentales. Les tailles des hybrides ne dépassaient pas pour autant les valeurs minimales et maximales des espèces parentales. Les hybrides semblent donc plus phénotypiquement variables que les espèces parentales malgré l'absence de variation génétique.

Quant à la forme, les prédictions initiales étaient tout de même des formes intermédiaires mais, dans ce cas-ci, la définition d'« intermédiaire » fut révisée. La forme n'est pas un trait additif mais peut être influencée par l'interaction des allèles des deux espèces parentales (Nolte et Sheets 2005). Les hybrides bénéficient d'allèles provenant de deux espèces différentes et pourraient avoir des phénotypes distribués dans la gamme de variation morphologique définie par les phénotypes des deux espèces parentales (Nolte et Sheets 2005).

L'ensemble des structures mesurées présentent autant de variation en forme pour les hybrides que pour les espèces parentales. En moyenne, seul le dentaire présentait un phénotype intermédiaire. Les prédictions initiales étaient que chaque structure présenterait un phénotype intermédiaire en moyenne ; cependant, le prémaxillaire, le maxillaire et le kinethmoïde ne se plient pas à ces prédictions.

3.2.1. Dominance génétique chez *C. eos-neogaeus*

Les hybrides ne sont pas toujours des intermédiaires phénotypiques mais ressemblent parfois plus à une espèce parentale qu'à l'autre. Dans ce cas, les gènes d'une espèce parentale seront dominants face aux gènes de l'autre (Heslop -Harrison 1990). Les hybrides *C. eos-neogaeus* ont un phénotype qui en moyenne n'est pas significativement différent de *C. neogaeus* pour le prémaxillaire. Cette similarité suggère une dominance génétique de *C. neogaeus* dans le développement du prémaxillaire chez les hybrides.

La dominance génétique est aussi appuyée par les données développementales. Premièrement, la droite de régression allométrique du prémaxillaire des hybrides est colinéaire avec celle de *C. neogaeus*. Ceci veut dire que, pour la même taille, la forme prédite pour les hybrides est la même que *C. neogaeus*. L'allométrie de cette structure semble hautement canalisée dans le complexe puisque, pour le prémaxillaire, les trois biotypes présentent des droites de régression allométrique parallèles.

De plus, les patrons d'intégrations morphologiques étaient les mêmes entre *C. neogaeus* et les hybrides. Pour ces deux biotypes, le prémaxillaire, le maxillaire et le dentaire semblent intégrés entre eux, alors que le kinethmoïde était indépendant au niveau de sa forme. Ce patron s'explique par les origines développementales de chacun de ces os et par la fonction remplie par les mâchoires (Cubbage et Mabee 1996, Hernandez *et al.* 2007). Le patron exhibé par *C. eos* était différent des deux autres biotypes ; ici aussi, il semblerait que *C. neogaeus* exerce une dominance par rapport à *C. eos*. Il faut toutefois prendre en compte le haut taux de variation du prémaxillaire. En effet, les hybrides ne sont pas 100% similaires à *C. neogaeus* pour cette structure et peuvent aussi montrer des phénotypes plus similaires à *C. eos*.

3.2.2. Variation et transgressions phénotypiques chez *C. eos-neogaeus*

Le maxillaire et le kinethmoïde présentaient tous deux des morphologies transgressives chez les hybrides. La transgression phénotypique est généralement attendue comme conséquence de la ségrégation transgressive des allèles et de la recombinaison génétique dans les hybrides de seconde génération (Bell et Travis 2005, Albertson et Kocher 2005). Cependant, les hybrides *C. eos-neogaeus* se reproduisent de manière clonale, donc tous les individus d'une population ont le même génotype, de même que leur descendance (Elder et Schlosser 1995).

Le fait d'obtenir des phénotypes transgressifs chez les hybrides *C. eos-neogaeus* est donc inattendu car ces processus de ségrégation transgressive des allèles et de recombinaison génétique ne peuvent pas avoir lieu. La forme de ces structures est dépendante de l'interaction de réseaux de gènes des deux espèces parentales. Les résultats de Renaud *et al* (2012) suggèrent que la transgression phénotypique peut survenir dans la première génération d'hybrides et que les interactions entre les génomes parentaux peuvent engendrer des structures globalement transgressives mais dont les sous-unités structurales auront une tendance à exhiber des phénotypes plutôt parentaux ou intermédiaires. Dans le cas du maxillaire et du kinethmoïde, ceux-ci ont été étudiés en tant que tout et l'hypothèse de sous-unités structurelles n'a pas été testée.

Néanmoins, ces deux structures sont effectivement transgressives dans leur morphologie. Donc à l'échelle de l'os, les hybrides peuvent démontrer des phénotypes transgressifs. Mais, les hybrides démontrent aussi un phénotype transgressif pour leurs mâchoires dans leur globalité. En effet, les mâchoires fonctionnent comme un tout. Ainsi, comme le prémaxillaire est similaire à celui de *C. neogaeus* et le maxillaire et le kinethmoïde sont transgressifs, la forme globale des mâchoires est transgressive par rapport aux espèces parentales. Les résultats de ce projet montrent que les hybrides asexués, et donc des hybrides de première génération, ne se plie pas forcément à des prédictions de modèles additifs dans leur forme mais peuvent au contraire démontrer des phénotypes variés et transgressifs par rapport aux espèces parentales.

3.2.3. Changements développementaux suite à l'hybridation

L'hybridation entre deux taxons entraîne souvent une plus grande instabilité développementale chez les organismes hybrides, résultant de l'absence de coévolution entre les deux génomes

parentaux (Grant et Grant 1994, Seehausen 2004, Renaud *et al.* 2012). L'hybridation est aussi capable de modifier des propriétés développementales comme l'allométrie ou l'intégration phénotypique, chez les hybrides par rapport aux espèces parentales (Parsons 1990). Ces modifications développementales vont mener à des divergences phénotypiques.

Dans le cas des mâchoires de *C. eos-neogaeus*, le maxillaire, le dentaire et le kinethmoïde présentent tous les trois des phénotypes significativement différents de ceux des espèces parentales, suggérant dès lors des différences développementales. Ces différences sont retrouvées lorsqu'on regarde les variations allométriques au sein du complexe *C. eos-neogaeus*. Le dentaire varie différemment pour chaque biotype, cependant, à faible taille les hybrides ressemblent à *C. eos* et, à grande taille, les hybrides ressemblent plus à *C. neogaeus*.

Ensuite, les morphologies transgressives du maxillaire et du kinethmoïde suggèrent aussi que, pour les hybrides, ces éléments varient dans des composantes de leur formes différentes des espèces parentales. En effet, pour ces deux os, les droites de régression allométriques des hybrides sont différentes entre les espèces parentales et les hybrides.

La variation allométrique est la même pour les trois biotypes pour prémaxillaire, ce qui suggère une certaine canalisation au niveau de cet os, canalisation qui est absente au niveau des trois autres os. Ces différences de variation allométriques entre hybrides et espèces parentales peuvent accentuer les différences morphologiques entre ces trois biotypes. L'allométrie chez les hybrides *C. eos-neogaeus* peut entraîner de la variation morphologique comme conséquence de la croissance et peut augmenter la gamme de phénotypes produits par un génotype unique (Schillaci *et al.* 2005).

Les hybrides présentaient aussi des différences d'intégration morphologiques avec *C. eos* et étaient plus semblables à *C. neogaeus*, comme mentionné plus haut. Bien que ce patron

de covariation soit similaire à celui de *C. neogaeus*, la variation à l'intérieur de chaque module (module dentaire-prémaxillaire-maxillaire et module kinethmoïde) n'est pas nécessairement plus similaire à *C. neogaeus*. L'ensemble des résultats montre donc que, bien qu'il semble y avoir une dominance génétique de *C. neogaeus* dans la forme du prémaxillaire et dans l'intégration phénotypique, l'interaction entre les génomes des espèces parentales est complexe et affecte le développement de chacune des structures différemment.

3.3. Différences écologiques au sein du complexe *C. eos-neogaeus*

Un aspect important de l'étude conduite ici est le partitionnement de niche entre les hybride *C. eos-neogaeus* et les espèces parentales. Les hybrides du complexe *C. eos-neogaeus* se reproduisent par gynogenèse et doivent donc vivre en sympatrie avec au moins une des deux espèces parentales pour pouvoir se reproduire (Elder et Schlosser 1995, Mee et Rowe 2010).

Les hybrides et les espèces parentales sont donc potentiellement en compétition pour les ressources dans leur habitat (Mee 2014). Les différences dans la morphologie trophique des espèces peuvent entraîner des différences écologiques qui permettraient de réduire la compétition (Mee *et al.* 2013).

Les études morphologiques conduites sur le complexe ont montré que les hybrides étaient morphologiquement différents des espèces parentales mais montraient des tendances intermédiaires. Le fait d'être intermédiaire implique que la niche des hybrides peut chevaucher celles des deux espèces parentales. Les résultats du projet présenté ici montrent une tendance à la transgression phénotypique dans les mâchoires des hybrides *C. eos-neogaeus* par rapport aux espèces parentales.

Chez les Cypriniformes, l'alimentation dépend principalement des mâchoires de par la protrusion prémaxillaire. Lorsque le poisson veut s'alimenter, les maxillaires sont poussés en

avant sur les prémaxillaires les quels sont projetés vers l'extérieur. Lors de la protrusion, le kinethmoïde va pivoter jusqu'à 180 degré et influencera autant la force que l'envergure de la protrusion (Staab *et al.* 2012). Le dentaire ne participe pas activement au mouvement, cependant sa forme et sa position relative influenceront la taille de la cavité buccale, dont son ouverture durant la protrusion. Le volume de la cavité buccale augmentant de manière significative durant la protrusion, le vide produit crée un cône de succion par lequel le poisson aspire ce qui se trouve devant lui (Staab *et al.* 2012). La succion associée à la protrusion prémaxillaire est d'autant plus forte que l'ouverture buccale est étroite (Staab *et al.* 2012).

Les résultats du projet ne révèlent pas les modifications mécaniques et fonctionnelles des mâchoires chez les hybrides *C. eos-neogaeus*. Néanmoins, il est possible d'inférer des différences fonctionnelles entre chacun des biotypes. En effet, dans le cas du kinethmoïde, par exemple, celui-ci est inclus dans le ligament intermaxillaire et des changements de forme et de taille peuvent limiter l'élasticité du ligament et réduire la distance de la protrusion prémaxillaire et augmenter sa vitesse.

La performance de la protrusion prémaxillaire est donc dépendante de la forme et de la configuration de chaque élément composant les mâchoires. Dans ce contexte, la transgression phénotypique pourrait entraîner des différences fonctionnelles importantes, ce qui modifiera le comportement alimentaire chez les hybrides.

3.3.1. L'effet de l'environnement sur la variation morphologique

Le deuxième chapitre se concentrait sur les différences morphologiques entre les espèces parentales et les hybrides sans aborder la variation phénotypique induite par l'environnement. Lors des analyses statistiques l'effet environnement était pris en compte pour évaluer les différences entre espèces mais n'était pas mesuré en tant que tel. Cependant, le haut taux de

variation morphologique observé chez les hybrides suggère que ceux-ci pourraient être plastiques.

Les spécimens de *C. eos-neogaeus* échantillonnés pour le deuxième chapitre provenaient de trois sites différents. En parallèle à cet échantillonnage, des spécimens ont été obtenus d'autres sites qui regroupaient autant des lacs que des ruisseaux. L'ensemble des données sur les mâchoires a été analysé et montre que le site d'échantillonnage a un effet significatif sur la forme des mâchoires chez *C. eos-neogaeus*.

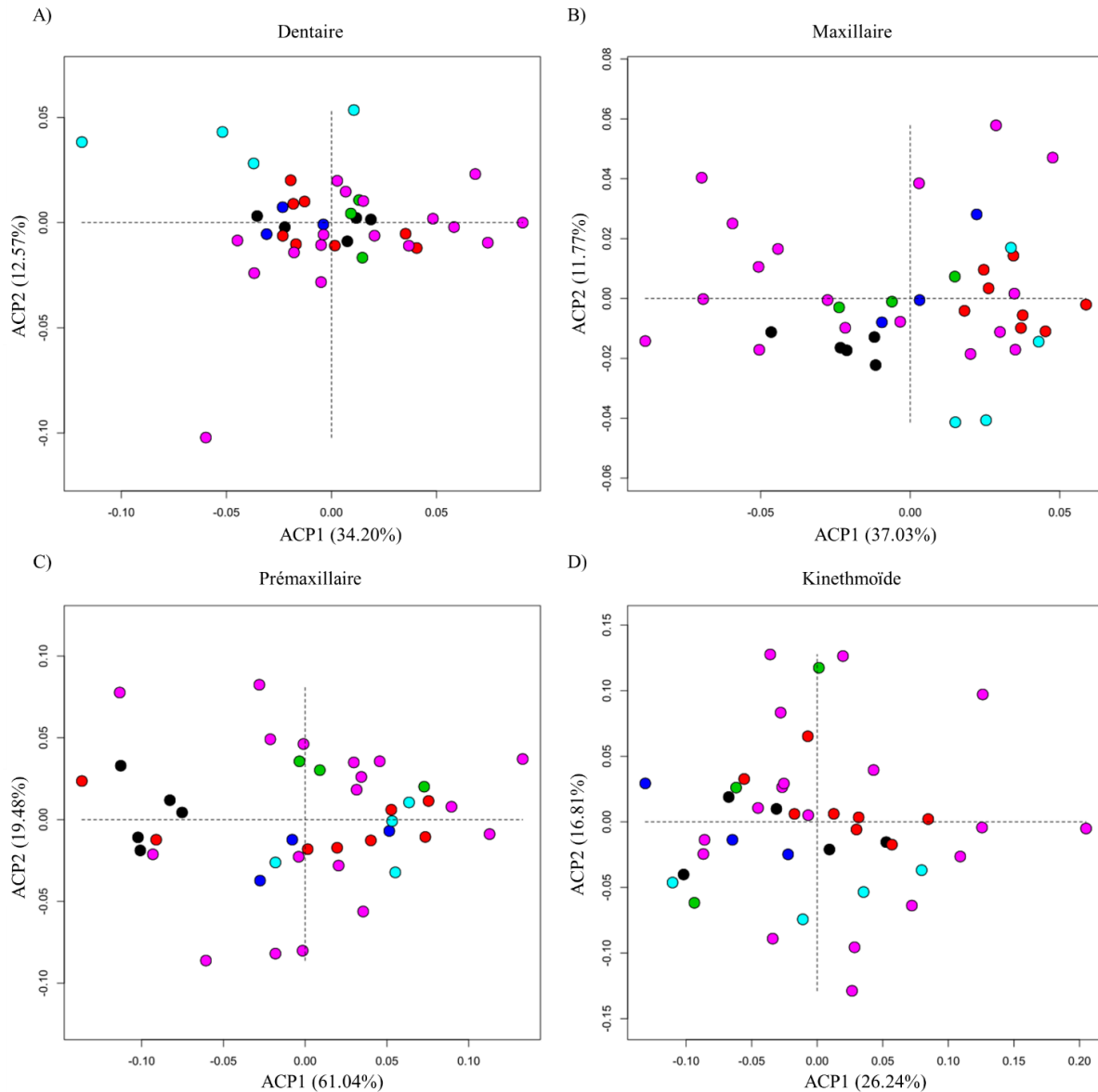


Figure 3.1. Variation phénotypique des éléments des mâchoires de *C. eos-neogaeus* dans différents sites. La variation phénotypique du A: dentaire, B: du maxillaire, C: du prémaxillaire et D: du kinethmoïde sont montrés sous la force d'analyses en composantes principales. Seuls les deux premiers axes sont montrés pour la clarté de la visualisation. Les couleurs représentent différents sites d'échantillonnage : noir, lac à la barbotte ; rouge, lac Desjardins ; vert, lac Merde ; bleu, lac Paquette ; cyan, lac Richer ; magenta, lac Saad.

Comme le montrent la figure 3.1. et le tableau 3.1., le site d'échantillonnage semble avoir un effet significatif sur la forme pour au moins le dentaire, le maxillaire et le prémaxillaire. Ces résultats additionnels indiquent que, effectivement, les hybrides *C. eos-neogaeus* semblent être plastiques dans leur morphologie. Par contre, ces résultats ne font qu'indiquer la présence de plasticité chez les hybrides et ne permettent pas d'évaluer son rôle dans leur écologie.

Tableau 3.1. Effet de du site d'échantillonnage sur la forme des éléments des mâchoires chez *C. eos-neogaeus*. L'effet du site d'échantillonnage sur la forme des différents éléments des mâchoires a été testé avec des MANOVAs. Les valeurs significatives sont en gras.

Élément	P-value
Dentaire	0.014
Maxillaire	0.003
Prémaxillaire	0.028
Kinethmoïde	0.128

3.3.2. La morphologie fonctionnelle de *C. eos-neogaeus*

La morphologie fonctionnelle des Cypriniformes ne se limite pas aux mâchoires. Bien que ces dernières soient centrales à l'alimentation, elles n'en sont pas seule garante. En effet, les mâchoires doivent s'articuler et fonctionner en conjonction avec d'autres éléments crâniens dont tous les éléments de la barre hyoïdienne. De plus le dentaire s'articule sur le préopercule et le reste de la série operculaire participe aux mouvements de la mâchoire inférieure. Les os de la série operculaire permettent aussi la modulation du volume de la cavité pharyngienne ; la série operculaire joue donc autant un rôle l'alimentation que les mâchoires, en plus de jouer un rôle dans la respiration (Gibb et Ferry-Graham 2005).

Les Cypriniformes ont perdu toute dentition sur les mâchoires, en contrepartie, les 5^{èmes} arcs branchiaux sont modifiés en mâchoires pharyngiennes. Celle-ci sont devenues de robustes structures arquées qui portent des dents et permettent la mastication du bol alimentaire à l'arrière

de la cavité pharyngienne (Huyseune et Sire 1998, Huyseune 2000). Les arcs jouent un rôle direct dans l'alimentation et sont liés aux spécialisations alimentaires chez les Cypriniformes. En effet, suivant la diète du poisson, la forme des arcs va changer pour accommoder des différences de contraintes mécaniques lors de la mastication. De plus, les dents pharyngiennes auront des formes très variables et seront plus digitiformes pour des poissons carnivores, ou molariformes pour des poissons essentiellement herbivores (Gidmark *et al.* 2014). La forme des dents est liée à une forte plasticité phénotypique chez les Cypriniforme et est dépendante de la mécanoréception lors de la mastication (Günter *et al.* 2013).

Chez *C. eos-neogaeus*, les mâchoires pharyngiennes sont très variables dans leur forme ainsi que dans leurs patrons de dentition et révèlent des différences marquées entre les espèces parentales et entre les parents et les hybrides (Leung *et al.*, communication personnelle). Néanmoins, les dents chez *C. eos-neogaeus* semblent digitiformes ce qui suggérerait un mode d'alimentation carnivore.

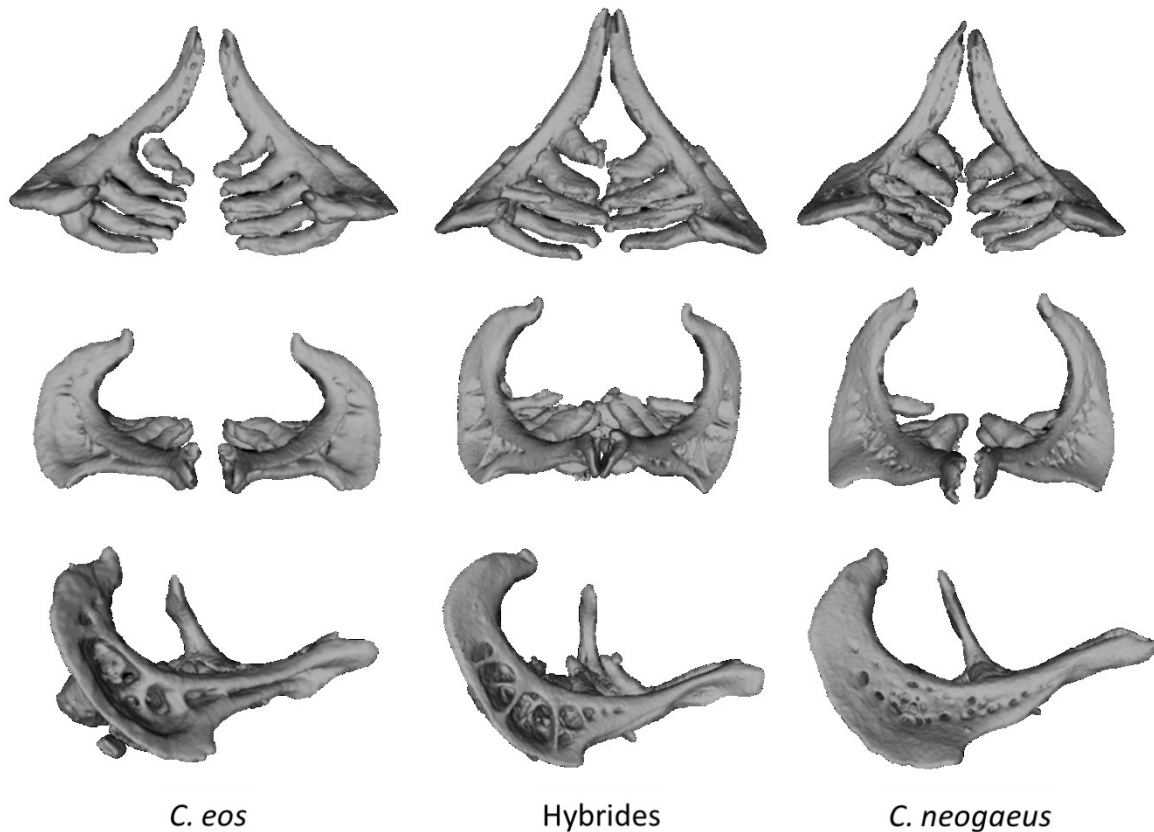


Figure 3.2. Arcs pharyngiens des espèces parentales et des hybrides *C. eos-neogaeus*. Image tirée de Leung *et al.* En préparation. Les hybrides ont une morphologie globale au niveau des arcs pharyngiens qui est différente de celle des espèces parentales. Ces différences se retrouvent dans la forme des dents, de la courbe des arcs et dans les cavités pulpaires présentes sur les bordures externes des arcs. Les hybrides présentent une structure réticulée pour ces cavités, *C. eos* présentent des cavités plus larges et profonde et *C. neogaeus* présente une surface plus lisse et ponctuée de petites perforations.

En plus des structures trophiques, les Cypriniformes vont démontrer des modifications squelettiques spécifiques à l’environnement dans la ceinture pectorale (Wainwright *et al.* 2002). La ceinture pectorale et les os qui la composent sont directement impliqués dans la fonction motrice, ils servent non seulement de support aux nageoires pectorales mais permettent aussi de répartir la force exercée par le courant sur le poisson (Westneat et Walker 1997). Ce système est donc pertinent pour la manœuvrabilité dans des milieux aux courants variables ainsi que

pour tous les comportements de chasse ou de fuite face à des prédateurs (Westneat et Walker 1997).

Finalement, les Cypriniformes, comme tous les poissons Ostariophysiens, possèdent un appareil de Weber, qui consiste en une série de modifications des quatre premières vertèbres cervicales et des arcs neuraux correspondants (Bird et Hernandez 2007). Les osselets de l'appareil de Weber jouent un rôle dans la transmission du son depuis la vessie natatoire jusqu'aux labyrinthes des otolites (l'oreille interne du poisson) (Bird et Hernandez 2007, Lechner et Ladish 2008). C'est une structure importante dans la perception de l'environnement par le son et qui sera impliquée dans les phénomènes de cohésion de groupe (Lechner et Ladish 2008, Ladish 2014).

Les mâchoires des hybrides *C. eos-neogaeus* étaient phénotypiquement différentes de celles des parents et offrent un premier indice que la niche écologique des hybrides leur est propre. Les autres systèmes fonctionnels crâniens et postcrâniens mériteraient d'être explorés plus en détails pour comprendre, non seulement les différences fonctionnelles entre les hybrides et les espèces parentales, mais aussi leurs similarités. En effet, même si le partitionnement de l'habitat est nécessaire pour une coexistence prolongée, le fait de partager un même habitat peut impliquer de la convergence phénotypique car chaque biotype partagera certaines des mêmes contraintes environnementales, par exemple la température ou la vitesse du courant (Grant 1972). Les hybrides doivent, de plus, être capables de se reproduire avec les espèces parentales, il est donc envisageable que les hybrides demeurent similaires aux espèces parentales dans certains traits morphologiques comme les patrons de coloration afin de faciliter la reproduction (Mee 2014).

3.4. Pertinence du modèle dans la littérature sur l'hybridation

Chrosomus eos-neogaeus semble présenter de la plasticité phénotypique au moins au niveau de sa mâchoire. Son caractère asexué fait donc de lui un modèle idéal pour l'étude de la plasticité phénotypique et pour tout autre mécanisme pouvant causer de la variation phénotypique indépendamment de la variation génétique.

Chrosomus eos-neogaeus est de plus un modèle intéressant pour l'étude du partitionnement de niche entre espèces proches, par sa cooccurrence obligatoire avec les espèces parentales pour pouvoir se reproduire, mais aussi par l'existence d'une multitude de génotypes hybrides (Angers et Schlosser 2007, Mee et Otto 2010, Mee 2014). En effet, l'existence de plusieurs lignées apporte une dimension écologique et évolutive intéressante dans l'étude de ce complexe. Lorsque sympatriques, deux lignées ou plus rentreront forcément en compétition pour les ressources sexuelles : le sperme des espèces parentales. Par contre, elles pourront se partitionner la niche sur d'autres aspects comme la nourriture. La gamme de phénotypes que chaque lignée pourra exhiber dépend des allèles spécifiques à cette lignée ; des lignées différentes auront donc des phénotypes différents et une écologie différente (Leung *et al.* 2016).

Les résultats de ce projet ont aussi pu montrer que la réponse à l'hybridation pouvait être mosaïque et, donc, que chaque trait a sa forme propre qui sera plus ou moins indépendante de celle des autres. Les résultats présents ici montrent tout de même une forte intégration entre le prémaxillaire, le dentaire et le maxillaire chez *C. eos-neogaeus* qui ont donc une tendance à covarier entre eux. L'hybridation a eu un impact sur le développement des éléments de la mâchoire, autant sur leur forme que sur leur potentiel de variation.

Le fait de changer les patrons d'intégration phénotypique chez les organismes hybrides pourrait avoir un impact, non pas sur la présence de plasticité phénotypique, mais sur la

trajectoire de changement de forme entre deux milieux. Les interactions entre différents traits vont contraindre ceux-ci dans leurs changements de formes. Or, les résultats de la présente étude et ceux de Renaud *et al* (2012) montrent que les hybrides n'auront pas forcément les mêmes patrons d'intégration que les espèces parentales et seront parfois plus modulaires (Renaud *et al.* 2012). Une modularité accrue pourrait donner lieu à une plus grande gamme de phénotypes possibles chez les hybrides que chez les espèces parentales grâce à l'absence de contraintes variationnelles.

Conclusion

L'hybridation peut entraîner l'apparition de nouvelles lignées phénotypiquement et écologiquement distinctes des lignées parentales. Dans le complexe *C. eos-neogaeus*, l'hybridation a donné lieu à de multiples lignées hybrides distribuées en Amérique du Nord. Ces lignées se reproduisent de manière clonale et offrent donc un modèle idéal pour l'étude de mécanismes de variation phénotypique indépendamment de la variation génétique.

Les mâchoires sont utilisées comme système modèle pour l'étude de variation phénotypique dans beaucoup d'organismes, mais rarement chez les Cypriniformes. Pourtant, les mâchoires sont reconnues comme un système morphologique démontrant beaucoup de variation et d'innovations morphologique au travers des taxons Cypriniformes. Son rôle fonctionnel et sa complexité en font un système particulièrement intéressant.

L'étude présentée ici est la première, non seulement à décrire les mâchoires chez les Cypriniformes en utilisant la morphométrie géométrique 3D, mais aussi à investiguer la variation morphologique et la transgression phénotypique dans un complexe d'hybrides asexués. Dans le contexte des hybrides *C. eos-neogaeus*, l'hybridation a eu un effet diversifiant en produisant des hybrides dont le phénotype est différent de celui des espèces parentales et qui peut en plus se montrer transgressif. Ces hybrides ont en plus la capacité de présenter autant, sinon plus, de variation phénotypique que leurs espèces parentales malgré leur mode de reproduction clonale. L'hybridation entre *C. eos* et *C. neogaeus* semble aussi avoir créé de la variation dans les mécanismes développementaux et dans la structure de la covariation phénotypique (intégration phénotypique).

Finalemant, la variation exhibée par les hybrides *C. eos-neogaeus* semble avoir un rôle à jouer au niveau dans le partitionnement de ressources entres les hybrides et les espèces parentales ainsi que dans l'acclimatation au milieu par plasticité phénotypique. Les hybrides *C. eos-neogaeus* sont dont un modèle particulièrement pertinent pour l'étude de l'hybridation et pour l'étude du rôle adaptatif de la plasticité phénotypique chez les vertébrés.

Bibliographie

- Adams, D. C., Otárola-Castillo, E., Paradis, E. (2013a). geomorph: anrpackage for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(4), 393-399. doi:10.1111/2041-210x.12035
- Adams, D. C., Rohlf, F. J., Slice, D. E. (2013b). A field comes of age: geometric morphometrics in the 21st century. *Hystrix*, 24(1), 7-14.
- Adams, D., Otárola-Castillo, E., Sherratt, E. (2014). Geomorph: Software for geometric morphometric analyses. R package version 2.0. Available at <http://cran.r-project.org/web/packages/geomorph/index.html>.
- Albertson, R. C. (2003). Genetic Basis of Adaptive Shape Differences in the Cichlid Head. *Journal of Heredity*, 94(4), 291-301. doi:10.1093/jhered/esg071
- Albertson, R. C., Kocher, T. D. (2001). Assessing morphological differences in an adaptive trait: A landmark-based morphometric approach. *Journal of Experimental Zoology*, 289(6), 385-403.
- Albertson, R. C., Kocher, T. D. (2005). Genetic architecture sets limits on transgressive segregation in hybrid cichlid fishes. *Evolution*, 59(3), 686-690.
- Albertson, R. C., Streelman, J. T., Kocher, T. D., Yelick, P. C. (2005). Integration and evolution of the cichlid mandible: the molecular basis of alternate feeding strategies. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(45), 16287-16292. doi:10.1073/pnas.0506649102
- Albertson, R. C., Kocher, T. D. (2006). Genetic and developmental basis of cichlid trophic diversity. *Heredity (Edinb)*, 97(3), 211-221. doi:10.1038/sj.hdy.6800864
- Alibert, P., Renaud, S., Dod, B., Bonhomme, F., Auffray, J.-C. (1994). Fluctuating asymmetry in the *Mus musculus* hybrid zone: a heterotic effect in disrupted co-adapted genomes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 258(1351), 53-59.
- Angers, B., Schlosser, I. J. (2007). The origin of *Phoxinus eos-neogaeus* unisexual hybrids. *Mol Ecol*, 16(21), 4562-4571. doi:10.1111/j.1365-294X.2007.03511.x
- Arnold, M. L. (1997). *Natural hybridization and evolution*: Oxford University Press.

- Auffray, J.-C., Alibert, P., Renaud, S., Orth, A., Bonhomme, F. (1996). Fluctuating asymmetry in *Mus musculus* subspecific hybridization *Advances in morphometrics* (pp. 275-283): Springer.
- Bell, M. A., Travis, M. P. (2005). Hybridization, transgressive segregation, genetic covariation, and adaptive radiation. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(7), 358-361.
- Beukeboom, L., Vrijenhoek, R. (1998). Evolutionary genetics and ecology of sperm-dependent parthenogenesis. *Journal of Evolutionary Biology*, 11(6), 755-782.
- Binet, M. C., & Angers, B. (2005). Genetic identification of members of the *Phoxinus eos-neogaeus* hybrid complex. *Journal of Fish Biology*, 67(4), 1169-1177.
- Bird, N. C., Hernandez, L. P. (2007). Morphological variation in the Weberian apparatus of Cypriniformes. *J Morphol*, 268(9), 739-757. doi:10.1002/jmor.10550
- Bonduriansky, R., Day, T. (2003). The evolution of static allometry in sexually selected traits. *Evolution*, 57(11), 2450-2458.
- Bookstein, F. L. (1997). Landmark methods for forms without landmarks: morphometrics of group differences in outline shape. *Medical image analysis*, 1(3), 225-243.
- Boulesteix, A.-L. (2005). A note on between-group PCA. *International Journal of Pure and Applied Mathematics*, 19, 359-366.
- Breuker, C. J., Debat, V., Klingenberg, C. P. (2006). Functional evo-devo. *Trends Ecol Evol*, 21(9), 488-492. doi:10.1016/j.tree.2006.06.003
- Britz, R., Conway, K. W., Rüber, L. (2009). Spectacular morphological novelty in a miniature cyprinid fish, *Danionella dracula* n. sp. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 276(1665), 2179-2186.
- Burke, J. M., Arnold, M. L. (2001). Genetics and the fitness of hybrids. *Annual review of genetics*, 35(1), 31-52.
- Callaway, R. M., Pennings, S. C., Richards, C. L. (2003). Phenotypic plasticity and interactions among plants. *Ecology*, 84(5), 1115-1128.
- Callaway, R. M., Ridenour, W. M. (2004). Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2(8), 436-443.
- Cann, C. E. (1988). Quantitative CT for determination of bone mineral density: a review. *Radiology*, 166(2), 509-522.

- Cubbage, C., C., Mabee, P., M.. (1996). Development of the cranium and paired fins in the zebrafish *Danio rerio* (Ostariophysi, Cyprinidae). *Journal of Morphology*, 229, 121-160.
- Castonguay, E., Angers, B. (2012). The key role of epigenetics in the persistence of asexual lineages. *Genet Res Int*, 2012, 534289. doi:10.1155/2012/534289
- Cheverud, J. M. (1982). Phenotypic, genetic, and environmental morphological integration in the cranium. *Evolution*, 499-516.
- Clarke, G. M. (1993). The genetic basis of developmental stability. I. Relationships between stability, heterozygosity and genomic coadaptation. *Genetica*, 89(1-3), 15-23.
- Collyer, M. L., Adams, D. C. (2013). Phenotypic trajectory analysis: comparison of shape change patterns in evolution and ecology. *Hystrix*, 24(1), 75-83.
- Cunningham, J. A., Rahman, I. A., Lautenschlager, S., Rayfield, E. J., Donoghue, P. C. (2014). A virtual world of paleontology. *Trends Ecol Evol*, 29(6), 347-357. doi:10.1016/j.tree.2014.04.004
- Davidson, E. H., Rast, J. P., Oliveri, P., Ransick, A., Calestani, C., Yuh, C.-H., . Arenas-Mena, C. (2002). A genomic regulatory network for development. *Science*, 295(5560), 1669-1678.
- Dawley, R. M., Schultz, R. J., Goddard, K. A. (1987). Clonal reproduction and polyploidy in unisexual hybrids of *Phoxinus eos* and *Phoxinus neogaeus* (Pisces; Cyprinidae). *Copeia*, 275-283.
- Doeringsfeld, M. R., Schlosser, I. J., Elder, J. F., Evenson, D. P. (2004). Phenotypic Consequences Of Genetic Variation In A Gynogenetic Complex Of *Phoxinus Eos-Neogaeus* Clonal Fish (Pisces: Cyprinidae) Inhabiting A Heterogeneous Environment. *Evolution*, 58(6), 1261-1273.
- Dowling, T. E., Secor, C. L. (1997). The role of hybridization and introgression in the diversification of animals. *Annual review of Ecology and Systematics*, 593-619.
- Elder Jr, J. F., & Schlosser, I. J. (1995). Extreme clonal uniformity of *Phoxinus eos/neogaeus* gynogens (pisces: Cyprinidae) among variable habitats in northern Minnesota beaver ponds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(11), 5001.

- Fernandez, R., Kvist, S., Lenihan, J., Giribet, G., Ziegler, A. (2014). Sine systemate chaos? A versatile tool for earthworm taxonomy: non-destructive imaging of freshly fixed and museum specimens using micro-computed tomography. *PLoS One*, 9(5), e96617. doi:10.1371/journal.pone.0096617
- Fisher-Reid, M. C., Engstrom, T. N., Kuczynski, C. A., Stephens, P. R., Wiens, J. J. (2013). Parapatric divergence of sympatric morphs in a salamander: incipient speciation on Long Island? *Molecular ecology*, 22(18), 4681-4694.
- Frederich, B., Parmentier, E., Vandewalle, P. (2001). Comparison of the skull development in Damselfish (Pomacentridae): an ecomorphological approach.
- Frommen, J. G., Herder, F., Engqvist, L., Mehlis, M., Bakker, T. C., Schwarzer, J., Thünken, T. (2011). Costly plastic morphological responses to predator specific odour cues in three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). *Evolutionary Ecology*, 25(3), 641-656.
- Garduño-Paz, M. V., Couderc, S., Adams, C. E. (2010). Habitat complexity modulates phenotype expression through developmental plasticity in the threespine stickleback. *Biological Journal of the Linnean Society*, 100(2), 407-413.
- Gibb, A. C., Ferry-Graham, L. (2005). Cranial movements during suction feeding in teleost fishes: Are they modified to enhance suction production? *Zoology (Jena)*, 108(2), 141-153. doi:10.1016/j.zool.2005.03.004
- Gidmark, N. J., Staab, K. L., Brainerd, E. L., Hernandez, L. P. (2012). Flexibility in starting posture drives flexibility in kinematic behavior of the kinethmoid-mediated premaxillary protrusion mechanism in a cyprinid fish, *Cyprinus carpio*. *J Exp Biol*, 215(Pt 13), 2262-2272. doi:10.1242/jeb.070516
- Gidmark, N. J., Tarrant, J. C., Brainerd, E. L. (2014). Convergence in morphology and masticatory function between the pharyngeal jaws of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, and oral jaws of amniote herbivores. *J Exp Biol*, 217(Pt 11), 1925-1932. doi:10.1242/jeb.096248
- Gilbert, C. R. (1961). Hybridization versus integradation: an inquiry into the relationship of two cyprinid fishes. *Copeia*, 1961(2), 181-192.

- Goddard, K. A., Dawley, R. M. (1990). Clonal inheritance of a diploid nuclear genome by a hybrid freshwater minnow (*Phoxinus eos-neogaeus*, Pisces: Cyprinidae). *Evolution*, 1052-1065.
- Goddard, K., Megwinoff, O., Wessner, L., Giaimo, F. (1998). Confirmation of gynogenesis in *Phoxinus eos-neogaeus* (Pisces: Cyprinidae). *Journal of Heredity*, 89(2), 151-157.
- Grant, P. R. (1972). Convergent and divergent character displacement. *Biological journal of the Linnean Society*, 4(1), 39-68.
- Grant, P. R., Grant, B. R. (1994). Phenotypic and genetic effects of hybridization in Darwin's finches. *Evolution*, 297-316.
- Gunter, H. M., Fan, S., Xiong, F., Franchini, P., Fruciano, C., Meyer, A. (2013). Shaping development through mechanical strain: the transcriptional basis of diet-induced phenotypic plasticity in a cichlid fish. *Mol Ecol*, 22(17), 4516-4531.
doi:10.1111/mec.12417
- Gunz, P., Mitteroecker, P. (2013). Semilandmarks: a method for quantifying curves and surfaces. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 24(1), 103-109.
- Hall, J. A., Larsen, J. H. (1998). Postembryonic ontogeny of the spadefoot toad, *Scaphiopus intermontanus* (Anura: Pelobatidae): skeletal morphology. *Journal of Morphology*, 238(2), 179-244.
- Hallgrímsson, B., Brown, J. J., Ford-Hutchinson, A. F., Sheets, H. D., Zelditch, M. L., Jirik, F. R. (2006). The brachymorph mouse and the developmental-genetic basis for canalization and morphological integration. *Evolution & development*, 8(1), 61-73.
- Hallgrímsson, B., Jamniczky, H., Young, N. M., Rolian, C., Parsons, T. E., Boughner, J. C., Marcucio, R. S. (2009). Deciphering the Palimpsest: Studying the Relationship Between Morphological Integration and Phenotypic Covariation. *Evol Biol*, 36(4), 355-376. doi:10.1007/s11692-009-9076-5
- Harrington, R. W. (1955). The osteocranium of the American cyprinid fish, *Notropis bifrenatus*, with an annotated synonymy of teleost skull bones. *Copeia*, 1955(4), 267-290.
- Hernandez, P., L., Bird, N. C., Staab, K. L. (2007). Using zebrafish to investigate cypriniform evolutionary novelties: functional development and evolutionary diversification of the kinethmoid. *J Exp Zool B Mol Dev Evol*, 308(5), 625-641. doi:10.1002/jez.b.21166

- Heslop-Harrison, J. (1990). Gene expression and parental dominance in hybrid plants. *Development*, 108(Supplement), 21-28.
- Hu, Y., Parsons, K. J., & Albertson, R. C. (2014). Evolvability of the cichlid jaw: new tools provide insights into the genetic basis of phenotypic integration. *Evolutionary Biology*, 41(1), 145-153.
- Huxley, J. (1932). Problems of relative growth. New York, L. MacVeagh, The Dial Press.
- Huxley, J. (1950). Relative growth and form transformation. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 465-469.
- Huyseune, A. (2000). Dynamics of tooth formation and replacement in the zebrafish (*Danio rerio*)(Teleostei, Cyprinidae). *Developmental Dynamics*, 219(4), 486-496.
- Huyseune, A., Sire, J.-Y. (1998). Early development of the zebrafish (*Danio rerio*) pharyngeal dentition (Teleostei, Cyprinidae). *Anatomy and embryology*, 198(4), 289-305.
- Jamniczky, H. A., Barry, T. N., Rogers, S. M. (2015). Eco-evo-devo in the Study of Adaptive Divergence: Examples from Threespine Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Integr Comp Biol*, 55(1), 166-178. doi:10.1093/icb/icv018
- Johansen-Morris, A., Latta, R. G. (2006). Fitness consequences of hybridization between ecotypes of *Avena barbata*: hybrid breakdown, hybrid vigor, and transgressive segregation. *Evolution*, 60(8), 1585-1595.
- Klingenberg, C. P. (2016). Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Dev Genes Evol*, 226(3), 113-137. doi:10.1007/s00427-016-0539-2
- Ladich, F. (2014). Fish bioacoustics. *Curr Opin Neurobiol*, 28, 121-127. doi:10.1016/j.conb.2014.06.013
- Leary, R. F., Allendorf, F. W., Knudsen, K. L. (1985). Developmental instability and high meristic counts in interspecific hybrids of salmonid fishes. *Evolution*, 1318-1326.
- Lechner, W., Ladich, F. (2008). Size matters: diversity in swimbladders and Weberian ossicles affects hearing in catfishes. *Journal of Experimental Biology*, 211(10), 1681-1689.
- Leung, C., Breton, S., & Angers, B. (2016). Facing environmental predictability with different sources of epigenetic variation. *Ecology and Evolution*.

- Leung, C., Duclos, K., Grünbaum, T., Cloutier, R., Angers, B. (communication personnelle). Asymmetry in dentition and shape of pharyngeal arches in the clonal fish *Chrosomus eos-neogaeus* : environmentally-induced alternative developmental pathway.
- Levins, R., Culver, D. (1971). Regional coexistence of species and competition between rare species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 68(6), 1246-1248.
- Massicotte, R., Angers, B. (2012). General-purpose genotype or how epigenetics extend the flexibility of a genotype. *Genet Res Int*, 2012, 317175. doi:10.1155/2012/317175
- Massicotte, R., Whitelaw, E., Angers, B. (2014). DNA methylation: A source of random variation in natural populations. *Epigenetics*, 6(4), 421-427. doi:10.4161/epi.6.4.14532
- Mee, J. A. (2014). Host-Size-Matching in a Sperm-Dependent Asexual Fish. *Evolutionary Biology*, 41(3), 459-472. doi:10.1007/s11692-014-9279-2
- Mee, J. A., Noddin, F., Hanisch, J. R., Tonn, W. M., Paszkowski, C. A. (2013). Diets of sexual and sperm-dependent asexual dace (*Chrosomus* spp.): relevance to niche differentiation and mate choice hypotheses for coexistence. *Oikos*, 122(7), 998-1008. doi:10.1111/j.1600-0706.2012.00178.x
- Mee, J. A., Otto, S. P. (2010). Variation in the strength of male mate choice allows long-term coexistence of sperm-dependent asexuals and their sexual hosts. *Evolution*, 64(10), 2808-2819. doi:10.1111/j.1558-5646.2010.01047.x
- Mee, J. A., Rowe, L. (2010). Distribution of *Phoxinus eos*, *Phoxinus neogaeus*, and their asexually-reproducing hybrids (Pisces: Cyprinidae) in Algonquin Provincial Park, Ontario. *PLoS One*, 5(10). doi:10.1371/journal.pone.0013185
- Metscher, B. D. (2009). MicroCT for developmental biology: a versatile tool for high-contrast 3D imaging at histological resolutions. *Dev Dyn*, 238(3), 632-640. doi:10.1002/dvdy.21857
- Mitteroecker, P. (2009). The Developmental Basis of Variational Modularity: Insights from Quantitative Genetics, Morphometrics, and Developmental Biology. *Evolutionary Biology*, 36(4), 377-385. doi:10.1007/s11692-009-9075-6
- Mitteroecker, P., Bookstein, F. (2011). Linear Discrimination, Ordination, and the Visualization of Selection Gradients in Modern Morphometrics. *Evolutionary Biology*, 38(1), 100-114. doi:10.1007/s11692-011-9109-8

- Mitteroecker, P., Gunz, P. (2009). Advances in Geometric Morphometrics. *Evolutionary Biology*, 36(2), 235-247. doi:10.1007/s11692-009-9055-x
- Motta, P. (1984). Mechanics and Functions of Jaw Protrusion in Teleost Fishes: A Review. *Copeia*, 1984(1), 1-18. doi:1. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/1445030> doi:1
- New, J. G. (1962). Hybridization between two cyprinids, *Chrosomus eos* and *Chrosomus neogaeus*. *Copeia*, 147-152.
- Nolte, A. W., Sheets, H. D. (2005). Shape based assignment tests suggest transgressive phenotypes in natural sculpin hybrids (Teleostei, Scorpaeniformes, Cottidae). *Frontiers in zoology*, 2(1), 1.
- Pavlicev, M., Kenney-Hunt, J. P., Norgard, E. A., Roseman, C. C., Wolf, J. B., & Cheverud, J. M. (2008). Genetic variation in pleiotropy: differential epistasis as a source of variation in the allometric relationship between long bone lengths and body weight. *Evolution*, 62(1), 199-213.
- Parsons, K. J., Marquez, E., Albertson, R. C. (2012). Constraint and opportunity: the genetic basis and evolution of modularity in the cichlid mandible. *Am Nat*, 179(1), 64-78. doi:10.1086/663200
- Parsons, P. (1990). Fluctuating asymmetry: an epigenetic measure of stress. *Biological reviews*, 65(2), 131-145.
- Pearman, P., Guisan, A., Broennimann, O., Randin, C.(2008). Niche dynamics in space and time. *Trends Ecol Evol*. 2008 March; 23(3): 149–158. doi: 10.1016/j.tree.2007.11.005
- Peaston, A. E., Whitelaw, E. (2006). Epigenetics and phenotypic variation in mammals. *Mammalian Genome*, 17(5), 365-374.
- Pfennig, D. W., Rice, A. M., Martin, R. A. (2006). Ecological opportunity and phenotypic plasticity interact to promote character displacement and species coexistence. *Ecology*, 87(3), 769-779.
- Pianka, E. R. (1974). *Evolutionary ecology*, 6 editions, 1974, 1978, 1983, 1988, 1994, and 2000 (Citation Classic): Harper & Row, Pearson, Addison-Wesley Longman.
- Pigliucci, M. (2005). Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends Ecol Evol*, 20(9), 481-486. doi:10.1016/j.tree.2005.06.001

- Raff, R. A. (2000). Evo-devo: the evolution of a new discipline. *Nature Reviews Genetics*, *1*(1), 74-79.
- Renaud, S., Alibert, P., Auffray, J. C. (2009). Mandible shape in hybrid mice. *Naturwissenschaften*, *96*(9), 1043-1050. doi:10.1007/s00114-009-0563-4
- Renaud, S., Alibert, P., Auffray, J. C. (2012). Modularity as a source of new morphological variation in the mandible of hybrid mice. *BMC Evol Biol*, *12*, 141. doi:10.1186/1471-2148-12-141
- Richards, C. L., Bossdorf, O., Muth, N. Z., Gurevitch, J., Pigliucci, M. (2006). Jack of all trades, master of some? On the role of phenotypic plasticity in plant invasions. *Ecol Lett*, *9*(8), 981-993. doi:10.1111/j.1461-0248.2006.00950.x
- Richards, C. L., Bossdorf, O., Pigliucci, M. (2010). What Role Does Heritable Epigenetic Variation Play in Phenotypic Evolution? *BioScience*, *60*(3), 232-237. doi:10.1525/bio.2010.60.3.9
- Ricklefs, R. E. (2009). Speciation, extinction and diversity. *Speciation and patterns of diversity*, 257-277.
- Ricklefs, R., Miles, D. (1994). Ecological and Evolutionary Inferences from Morphology: An Ecological Perspective. Ecological Morphology. Chicago, USA, The University of Chicago Press.
- Rieseberg, L. H., Raymond, O., Rosenthal, D. M., Lai, Z., Livingstone, K., Nakazato, T., Lexer, C. (2003). Major ecological transitions in wild sunflowers facilitated by hybridization. *Science*, *301*(5637), 1211-1216.
- Rodman, P. S. (1979). Skeletal differentiation of *Macaca fascicularis* and *Macaca nemestrina* in relation to arboreal and terrestrial quadrupedalism. *American Journal of Physical Anthropology*, *51*(1), 51-62.
- Rohlf, F. J., Slice, D. (1990). Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Biology*, *39*(1), 40-59.
- Ross, M. R., Cavender, T. M. (1981). Morphological analyses of four experimental intergeneric cyprinid hybrid crosses. *Copeia*, 377-387.
- Rüber, L., Adams, D. (2001). Evolutionary convergence of body shape and trophic morphology in cichlids from Lake Tanganyika. *Journal of Evolutionary Biology*, *14*(2), 325-332.

- Ryan, P. G. (2001). Morphological heritability in a hybrid bunting complex: *Nesospiza* at Inaccessible Island. *The Condor*, 103(3), 429-438.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning* (Vol. 2): Cold spring harbor laboratory press New York.
- Schillaci, M. A., Froehlich, J. W., Supriatna, J., Jones-Engel, L. (2005). The effects of hybridization on growth allometry and craniofacial form in Sulawesi macaques. *J Hum Evol*, 49(3), 335-369. doi:10.1016/j.jhevol.2005.04.010
- Schlager, S. (2014). Morpho: Calculations and visualisations related to Geometric Morphometrics. R-package version 2.0. 3-1.
- Schlosser, I. J., Doeringsfeld, M. R., Elder, J. F., Arzayus, L. F. (1998). Niche relationships of clonal and sexual fish in a heterogeneous landscape. *Ecology*, 79(3), 953-968.
- Schoener, T. (1974). Resource Partitioning in Ecological Communities. *Science, New Series*, Vol. 185, No. 4145, 27-39.
- Scott, W. B., Crossman, E. J. (1973). Freshwater fishes of Canada. *Fisheries Research Board of Canada Bulletin*, 184.
- Seehausen, O. (2004). Hybridization and adaptive radiation. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(4), 198-207.
- Sibbing, F. A. (1991). Food capture and oral processing. In *Cyprinid Fishes* (pp. 377-412). Springer Netherlands.
- Slice, D. E. (2007). Geometric Morphometrics. *Annual Review of Anthropology*, 36(1), 261-281. doi:10.1146/annurev.anthro.34.081804.120613
- Staab, K. L., Ferry, L. A., Hernandez, L. P. (2012). Comparative kinematics of cypriniform premaxillary protrusion. *Zoology (Jena)*, 115(2), 65-77. doi:10.1016/j.zool.2011.09.007
- Staab, K. L., Hernandez, L. P. (2010). Development of the cypriniform protrusible jaw complex in *Danio rerio*: constructional insights for evolution. *J Morphol*, 271(7), 814-825. doi:10.1002/jmor.10836
- Staab, K. L., Holzman, R., Hernandez, L. P., Wainwright, P. C. (2012). Independently evolved upper jaw protrusion mechanisms show convergent hydrodynamic function in teleost fishes. *J Exp Biol*, 215(Pt 9), 1456-1463. doi:10.1242/jeb.066308

- Stewart, T. A., Albertson, R. C. (2010). Evolution of a unique predatory feeding apparatus: functional anatomy, development and a genetic locus for jaw laterality in Lake Tanganyika scale-eating cichlids. *BMC Biol*, 8, 8. doi:10.1186/1741-7007-8-8
- Stillwell, R. C., Shingleton, A. W., Dworkin, I., Frankino, W. A. (2016). Tipping the scales: Evolution of the allometric slope independent of average trait size. *Evolution*, 70(2), 433-444. doi:10.1111/evo.12865
- Svanbäck, R., Pineda-Krch, M., Doebeli, M. (2009). Fluctuating population dynamics promotes the evolution of phenotypic plasticity. *The American Naturalist*, 174(2), 176-189.
- Travis, J. (1994). Evaluating the Adaptive Role of Morphological Plasticity. Ecological Morphology. Chicago, USA, The University of Chicago Press.
- Van Valen, L. (1965). Morphological variation and width of ecological niche. *American Naturalist*, 377-390.
- Van Valkenburgh, B. (1994). Ecomorphological Analysis of Fossil Vertebrates and Their Paleocommunities. Ecological Morphology. Chicago, USA, The University of Chicago Press.
- Vergilino, R., Leung, C., Angers, B. (2016). Inconsistent phylogeographic pattern between a sperm dependent fish and its host : *in situ* hybridization vs dispersal. BMC evolutionary biology.
- Vrijenhoek, R. C. (1979). Factors affecting clonal diversity and coexistence. *American Zoologist*, 19(3), 787-797.
- Vrijenhoek, R. (1984a). Ecological differentiation among clones: the frozen niche variation model *Population biology and evolution* (pp. 217-231): Springer.
- Vrijenhoek, R. C. (1984b). The evolution of clonal diversity in *Poeciliopsis* *Evolutionary genetics of fishes* (pp. 399-429): Springer.
- Waddington, C. H. (1942). Canalization of development and the inheritance of acquired characters. *Nature*, 150(3811), 563-565.
- Wainwright, P. (1994). Functional Morphology as a Tool in Ecological Research. Ecological Morphology. Chicago, USA, The University of Chicago Press.
- Wainwright, P. C., Bellwood, D. R., & Westneat, M. W. (2002). Ecomorphology of locomotion in labrid fishes. *Environmental Biology of Fishes*, 65(1), 47-62.

- Wagner, G. P., Pavlicev, M., Cheverud, J. M. (2007). The road to modularity. *Nat Rev Genet*, 8(12), 921-931. doi:10.1038/nrg2267
- West-Eberhard, M. J. (2003). *Developmental plasticity and evolution*: Oxford University Press.
- Westneat, M., Walker, J. (1997). Motor patterns of labriform locomotion: kinematic and electromyographic analysis of pectoral fin swimming in the labrid fish *Gomphosus varius*. *Journal of Experimental Biology*, 200(13), 1881-1893.
- Wiens, J. J., Graham, C. H. (2005). Niche Conservatism: Integrating Evolution, Ecology, and Conservation Biology. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36(1), 519-539. doi:10.1146/annurev.ecolsys.36.102803.095431
- Willmore, K. E., Young, N. M., Richtsmeier, J. T. (2007). Phenotypic Variability: Its Components, Measurement and Underlying Developmental Processes. *Evolutionary Biology*, 34(3-4), 99-120. doi:10.1007/s11692-007-9008-1
- Young, N. M. (2006). Function, ontogeny and canalization of shape variance in the primate scapula. *J Anat*, 209(5), 623-636. doi:10.1111/j.1469-7580.2006.00639.x
- Young, N. M., Hallgrímsson, B., Janis, C. (2005). Serial homology and the evolution of mammalian limb covariation structure. *Evolution*, 59(12), 2691-2704.
- Zelditch, M. L., Mezey, J., Sheets, H. D., Lundrigan, B. L., & Garland, T. (2006). Developmental regulation of skull morphology II: ontogenetic dynamics of covariance. *Evolution & development*, 8(1), 46-60.
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., Sheets, H. D. (2011). *Geometric morphometrics for biologists: a primer*: Academic Press.
- Zelditch, M. L., Wood, A. R., Swiderski, D. L. (2008). Building Developmental Integration into Functional Systems: Function-Induced Integration of Mandibular Shape. *Evolutionary Biology*, 36(1), 71-87. doi:10.1007/s11692-008-9034-7