

Université de Montréal

**Retracer le changement de la répartition
géographique d'une espèce grâce aux événements
d'hybridation *in situ***

par

Katherine Monette

Département de Sciences biologiques

Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présenté à la Faculté des Arts et des Sciences

en vue de l'obtention du grade de maîtrise

en Sciences biologiques

Novembre, 2018

© Katherine Monette, 2018

Résumé

La modification de la répartition géographique des espèces est fortement influencée par les changements climatiques. Dans les régions où les conditions deviennent défavorables, un déclin démographique conduisant souvent à l'extinction des espèces est observé. Au cours de ce déclin, des événements d'hybridation peuvent survenir lorsque les individus d'une espèce rare se reproduisent avec ceux d'une autre espèce plus abondante (principe de Hubbs). Une étude précédente a détecté, dans le sud du Québec (Canada), plusieurs événements d'hybridation *in situ* impliquant les femelles *Chrosomus neogaeus* et les mâles *Chrosomus eos* bien que *C. neogaeus* soit quasi absent de la région. Ceci a pu être réalisé grâce au mode de reproduction asexuée des hybrides qui conservent alors de façon intacte la diversité génétique des espèces parentales. L'objectif de l'étude est donc d'inférer les changements démographiques de *C. neogaeus* en fonction de la structure géographique d'événements d'hybridation. Un large échantillonnage latitudinal a été réalisé afin de déterminer la répartition géographique des membres du complexe *C. eos-neogaeus* et de tester différents scénarios biogéographiques. Alors que *C. neogaeus* était présent dans tous les bassins versants échantillonnés, une corrélation entre les bassins versants et l'origine glaciaire des individus les ayant colonisés a révélé différents historiques de colonisation postglaciaire. Cependant, un gradient latitudinal a été observé en ce qui concerne la diversité des hybrides. Au sud, les résultats ont révélé une importante quantité d'événements d'hybridation *in situ*, mais ceux-ci deviennent moins fréquents au nord. Ce gradient latitudinal pourrait être interprété comme étant la conséquence d'un déplacement vers le nord de la répartition géographique de *C. neogaeus* et constitue une preuve supplémentaire d'un changement environnemental à grande échelle dans les écosystèmes aquatiques d'eau douce depuis la fin de la glaciation.

Mots-clés : Changements démographiques, événements d'hybridation, répartition géographique, changements climatiques, méné ventre citron, *Chrosomus neogaeus*, complexe *Chrosomus eos-neogaeus*

Abstract

Shifts in the geographical distribution of species are strongly influenced by climate change. In areas where conditions become unfavorable, demographic decline precedes the extinction of a species. During this decline, hybridization events may occur when individuals of a scarce species breed with more abundant heterospecific individuals (Hubbs principle). A previous study in Southern Quebec (Canada), detected several *in situ* hybridization events involving females *Chrosomus neogaeus* and males *Chrosomus eos*, although *C. neogaeus* is nearly absent from the region. This has been achieved thanks to the asexual reproduction mode of hybrids which then preserve the genetic diversity of parental species intact. This study aimed to assess the demographic changes of *C. neogaeus* according to the geographic pattern of hybridization events. A large latitudinal sampling was performed to determine the geographical distribution of members of the *C. eos-neogaeus* complex and test different biogeographical scenarios. While *C. neogaeus* was present across all drainage basins sampled, a correlation between drainages and the glacial origin of individuals that colonized them revealed different postglacial colonization histories. However, a latitudinal gradient was observed regarding the hybrid diversity. In the south, results revealed a large occurrence of *in situ* hybridizations, but these became less common going north. This latitudinal pattern could be interpreted as a northward shift in the *C. neogaeus* geographical distribution and constitutes additional evidence of a large-scale environmental change in freshwater aquatic ecosystems since the end of glaciation.

Keywords: Demographic changes, hybridization events, geographical distribution, climatic changes, finescale dace, *Chrosomus neogaeus*, *Chrosomus eos-neogaeus* complex

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	ii
Table des matières.....	iii
Liste des tableaux.....	vi
Liste des figures.....	vii
Liste des sigles et abréviations.....	viii
Remerciements.....	x
1 Introduction générale.....	1
1.1 Répartition géographique des espèces.....	1
1.1.1 Glaciation du Pléistocène.....	1
1.1.2 Colonisation postglaciaire.....	2
1.1.3 Changements climatiques.....	2
1.2 Traces historiques des espèces éteintes.....	4
1.2.1 Signature paléontologique.....	4
1.2.2 Signature génétique.....	5
1.3 Reproduction clonale chez les vertébrés.....	7
1.3.1 Parthénogenèse.....	7
1.3.2 Gynogenèse.....	7
1.3.3 Hybridogenèse.....	8
1.4 Le complexe <i>Chrosomus eos-neogaeus</i>	8
1.4.1 Répartition géographique du complexe.....	10
1.4.2 Situation du complexe au Québec.....	10
1.5 Objectif.....	12
1.6 Hypothèses.....	12
1.6.1 <i>C. neogaeus</i> est absent dans toute la zone échantillonnée.....	12
1.6.2 Historiques de colonisation postglaciaire.....	13

1.6.3 Changements climatiques postglaciaires	13
2 Article : Shift in species distribution inferred through hybridization events	15
2.1 Abstract	15
2.2 Introduction	16
2.3 Methods	19
2.3.1 Sampling sites and identification	19
2.3.2 Glacial refugial origin of <i>C. neogaeus</i> mtDNA	21
2.3.3 Diversity of hybrid lineages	22
2.3.4 Geographical distribution of hybrid lineages	24
2.4 Results	25
2.4.1 Distribution of biotypes	25
2.4.2 Diversity of hybrid lineages	26
2.4.3 Glacial refugial origin of <i>Chrosomus neogaeus</i> mtDNA	30
2.4.4 Geographical distribution of hybrid lineages	31
2.5 Discussion	33
2.5.1 Glacial refugial origin of <i>Chrosomus neogaeus</i> mtDNA	34
2.5.2 <i>In situ</i> hybridization events	35
2.5.3 Geographical gradient of hybrid lineages	37
2.5.4 Climatic changes	38
2.6 Conclusion	39
Additional file 1	39
Additional file 2	41
Additional file 3	42
Additional file 4	44
3 Discussion générale	47
3.1 Abondance et origine glaciaire de <i>Chrosomus neogaeus</i>	47
3.2 Événements d'hybridation <i>in situ</i>	50
3.2.1 Isolement reproductif	50
3.2.2 Hybridation lors de changements climatiques	52

3.2.3 Répartition géographique des lignées d'hybrides.....	53
3.3 Gradient latitudinal des lignées d'hybrides	55
3.3.1 Différents signaux temporels.....	55
3.4 Changements climatiques	56
3.4.1 Déclin récent de <i>Chrosomus neogaeus</i>	56
3.4.2 Situation des écosystèmes aquatiques du Québec.....	58
3.4.3 Déplacement vers le nord de la répartition de <i>C. neogaeus</i>	58
4 Conclusion générale.....	61
Bibliographie	63

Liste des tableaux

Table 1. Results of the assignment of hybrid lineages to the <i>Chrosomus eos</i> populations	28
--	----

Liste des figures

Figure 1. Reproduction clonale par gynogenèse chez les hybrides asexués du complexe <i>Chrosomus eos-neogaeus</i>	28
Figure 2. Map of south eastern Quebec (Canada) with geographic locations of sampling sites.....	20
Figure 3. Biotypes and hybrid lineages distribution	26
Figure 4. Effects of postglacial colonisation history on the different biotypes.....	30
Figure 5. Number of hybrid lineages per site of each drainage basin according to latitude.....	32

Liste des sigles et abréviations

%	Pourcentage
°C	Degré Celcius / Celcius degree
ADN	Acide désoxyribonucléique
bp	Base pair
dbRDA	Distance-Based Redundancy Analysis
DNA	Desoxyribonucleic acid
<i>et al.</i>	<i>Et alii</i> (et autres)
GLM	Generalized Linear Model
km	Kilomètre / Kilometer
mtDNA	Mitochondrial DNA
n	Sample size
Pseudo-R ²	Pseudo coefficient of determination
p-value (p)	Probability value
RFLP	Restriction Length Polymorphism
SD	Déviation standard / Standard deviation

À ces petits poissons colorés pleins de secrets...

Remerciements

J'aimerais tout d'abord remercier mon directeur de recherche Bernard Angers. La réalisation de ce mémoire n'aurait pas été possible sans son soutien. Merci à sa générosité, son entrain à répondre à mes questions et son sens de l'humour. Merci également pour les balades en voiture sur quelques milliers de kilomètres dans le cadre de mon échantillonnage (la distance exacte parcourue demeurera malheureusement toujours un mystère). Je n'oublierai jamais ces deux belles années de recherche.

Merci également à tous les membres du laboratoire d'Épigénétique des Populations Naturelles pour leur aide, leurs connaissances, leur amitié et tous les fous rires. J'ai passé de merveilleux moments en votre compagnie. Merci à Christelle Leung, Dorin Rogov, Romain Vétil, Joelle Lafond, Sandrine Bélanger et Julian Wittische pour leur contribution aux analyses génétiques et statistiques. J'ai grandement apprécié votre aide sans oublier votre enthousiasme. J'apprécie également le support qui a été offert par les membres de mon comité-conseil ainsi que mon jury d'examen. Merci à Virginie Lemieux-Labonté et Mélanie Normandeau-Bonneau pour leur soutien moral et leur aide.

Je remercie mon conjoint, ma famille et mes amis proches qui m'ont soutenue et encouragée tout au long de ma maîtrise.

Un grand merci à tous ceux et celles qui ont permis la réalisation de ce projet!

1 Introduction générale

1.1 Répartition géographique des espèces

1.1.1 Glaciation du Pléistocène

La répartition géographique actuelle des espèces de poissons d'eau douce en Amérique du Nord est le résultat de nombreux processus biogéographiques survenus depuis la fin du Pléistocène, il y a de cela environ 10 000 ans (Mandrak et Crossman, 1992). Durant la glaciation du Wisconsin, les espèces étaient confinées dans des habitats en périphérie des glaciers nommés refuges glaciaires. En Amérique du Nord, les principaux refuges glaciaires étaient les refuges mississippien, atlantique et acadien (Curry, 2007; Mandrak et Crossman, 1992). Le refuge mississippien était localisé dans la vallée de la rivière Mississippi, au sud-ouest des Grands Lacs (Curry, 2007; Mandrak et Crossman, 1992). Certaines portions du continent, aujourd'hui submergées, se trouvaient au-dessus du niveau de la mer qui était plus bas en raison de l'importante quantité d'eau monopolisée par les glaciers (Curry, 2007). Ainsi, le refuge atlantique se situait à l'est de la côte américaine, dans la région actuellement connue sous le nom du Golfe du Maine (Curry, 2007; Mandrak et Crossman, 1992). Pour ce qui est du refuge acadien, celui-ci était plutôt localisé au large de Terre-Neuve (Bernatchez, 1997; Curry, 2007).

La glaciation du Wisconsin s'est étalée de 80 000 à environ 10 000 ans avant la présente époque et les populations des refuges glaciaires sont demeurées isolées jusqu'à la fin de la déglaciation (Curry, 2007; Mandrak et Crossman, 1992). Cet isolement a entraîné la divergence des populations qui ont évolué de façon indépendante les unes des autres (Bernatchez, 1997; Hewitt, 2000; Hewitt, 2004; Maggs *et al.*, 2008; Stewart *et al.*, 2010; Todd et Hatcher, 1993), ce qui a alors créé une différenciation génétique entre les populations d'une même espèce isolées dans des refuges distincts.

1.1.2 Colonisation postglaciaire

À la fin du Pléistocène, une augmentation d'environ 5°C de la température du globe est survenue (Hansen et Sato, 2012). Ce réchauffement climatique a entraîné la fonte et le recul du glacier vers le nord. Avec les grandes quantités d'eaux ainsi produites, des réseaux hydrographiques temporaires ont été créés et ont permis la dispersion des espèces aquatiques (Mandrak et Crossman, 1992).

Il n'est pas possible de déterminer avec précision et certitude les corridors de colonisation postglaciaires empruntés par les espèces. Cependant, de nombreuses études géologiques ont permis d'identifier les principaux corridors possibles de colonisation en Amérique du Nord (Curry, 2007; Mandrak et Crossman, 1992; Parent et Occhietti, 1999). Tout d'abord, suivant le retrait du glacier, les individus des refuges mississippien et atlantique ont colonisé la vallée du fleuve Saint-Laurent via la rivière Mississippi et Hudson respectivement (Curry, 2007; Mandrak et Crossman, 1992; Parent et Occhietti, 1999). Des eaux de fonte coulant vers le sud-est ont ensuite permis aux individus de coloniser ce qui constitue aujourd'hui les bassins versants de la rivière Saint-François et de la rivière Chaudière au sud du Québec (Curry, 2007; Mandrak et Crossman, 1992; Parent et Occhietti, 1999). Puis, les individus ont emprunté le fleuve Saint-Jean afin de coloniser l'est et le nord de la province. Ce même fleuve a vraisemblablement été utilisé par les individus du refuge acadien afin de coloniser le Québec via le nord (Curry, 2007; Mandrak et Crossman, 1992; Parent et Occhietti, 1999).

1.1.3 Changements climatiques

Suivant la colonisation postglaciaire, la répartition géographique des espèces est demeurée dynamique. D'importants changements climatiques, tels que le réchauffement planétaire, entraînent une modification de la répartition géographique des espèces. À la limite nord de l'aire de répartition des espèces, des habitats, qui possédaient un climat autrefois limitant, sont alors disponibles (Alofs, 2014). Ceci provoque la migration des individus vers des latitudes plus nordiques, ce phénomène ayant été observé chez de nombreuses espèces végétales et animales, dont les

poissons, depuis la fin de la glaciation (Alofs, 2014; Chu *et al.*, 2005; Comte *et al.*, 2013).

Toutefois, la répartition géographique des espèces n'est pas uniforme dans l'espace puisqu'elle est entrecoupée d'habitats inhospitaliers et diverses barrières géographiques limitent la migration des espèces. Les lignes côtières ou les montagnes en sont des exemples (Burrows *et al.*, 2014). Les espèces peuvent alors être incapables de migrer. Elles se retrouvent ainsi coincées à la limite sud de leur aire de répartition où les conditions climatiques y deviennent défavorables et entraînent l'extinction des populations (Thomas *et al.*, 2004).

En plus du réchauffement planétaire, d'autres facteurs climatiques et environnementaux peuvent provoquer l'extinction des espèces. Actuellement, la fragmentation et la perte d'habitats (provoquées par l'activité humaine ou la pollution par exemple) font partie des principales causes d'extinction des populations. Ces dernières n'arrivent souvent pas à s'adapter à la perte de ressources et/ou la compétition avec d'autres espèces pour ces ressources (Andren, 1994; Hill et Caswell, 1999; Wilcox et Murphy, 1985). Indirectement, la fragmentation des habitats diminue également la diversité génétique des populations en isolant celles-ci les unes des autres (Templeton *et al.*, 1990; Young *et al.*, 1996). Cette diminution de la diversité génétique peut provoquer l'extinction des populations en les rendant moins aptes à s'adapter à des environnements changeants ou à la propagation de maladies et parasites (Templeton *et al.*, 1990; Young *et al.*, 1996). Finalement, la compétition entre les espèces est un autre exemple de cause pouvant entraîner l'extinction des populations. Cette compétition peut être provoquée par l'introduction d'espèces exotiques ou la migration d'espèces dont la répartition a pu être étendue en raison du réchauffement climatique (Chu *et al.*, 2005; Gurevitch et Padilla, 2004; Sorte *et al.*, 2010). Ces espèces entrent alors en conflit avec celles qui occupaient déjà la zone.

1.2 Traces historiques des espèces éteintes

1.2.1 Signature paléontologique

Les espèces éteintes laissent parfois des traces historiques variées permettant d'inférer les effets des changements climatiques sur leur répartition géographique. Sur une échelle de temps couvrant des milliers d'années, les isotopes, les oligo-éléments, les fossiles, les écailles, les coquilles et les graines ou le pollen des plantes peuvent être trouvés dans des couches distinctes de sédiments (Lotze et Worm, 2009). Dans un site donné, ces traces peuvent ainsi démontrer la présence historique d'une espèce bien que celle-ci y soit aujourd'hui absente. Par la suite, elles peuvent également permettre d'y reconstituer les conditions climatiques passées et de déterminer la ou les causes possibles de la disparition de l'espèce (Carrión *et al.*, 2000; Lotze et Worm, 2009).

Dans la péninsule ibérique, le chêne-liège (*Quercus suber*) possède une répartition géographique localisée principalement à l'ouest de la région. Par contre, une zone disjointe au nord-est suggère que l'espèce possédait auparavant une répartition beaucoup plus large (Carrión *et al.*, 2000). Effectivement, une étude palynologique des sédiments de divers sites à travers la péninsule a permis de déterminer que la répartition de *Q. suber* s'étendait autrefois de l'ouest jusqu'à l'est de la péninsule (Carrión *et al.*, 2000). Au courant de l'Holocène, d'importants incendies survenus dans la région, tel qu'indiqué par la découverte d'une concentration de charbon dans les sédiments, ont favorisé la dispersion de *Q. suber*, une espèce résistante au feu. Une forêt entière de pins a ainsi été remplacée par des communautés d'essences du genre *Quercus* incluant *Q. suber* (Carrión *et al.*, 2000). Sachant que *Q. suber* était autrefois grandement répandu, sa répartition géographique actuelle serait due à l'activité humaine, plus particulièrement l'industrie forestière (Carrión *et al.*, 2000).

Cependant, malgré les vestiges laissés par les espèces éteintes, seule une fraction de l'ancienne diversité des espèces (<1% jusqu'à seulement quelques pour cent) peut être récupérée (Behrensmeyer *et al.*, 1979; Raup, 1994). Effectivement, ce

ne sont pas toutes les espèces ayant jamais vécu qui ont laissé ou qui laisseront des traces fossiles puisque ceci est grandement affecté par l'abondance des espèces ainsi que leur taille corporelle et leur constitution (c'est-à-dire la présence de parties dures). Des espèces plus abondantes et plus grosses auront une plus grande probabilité d'être fossilisées et échantillonnées (Behrensmeyer *et al.*, 1979; Raup, 1994). Ceci étant dû au fait que les petits os présentent une plus grande susceptibilité de destruction par bioturbation (piétinement) et par des processus physiques et chimiques d'altération.

1.2.2 Signature génétique

1.2.2.1 Hybridation

Toutefois, des traces historiques d'espèces éteintes peuvent également persister chez des organismes tels que les hybrides. Avant l'extinction, le déclin démographique d'une espèce peut entraîner des événements d'hybridation. Selon le principe de Hubbs (Hubbs, 1955), il est attendu que, lorsque les individus conspécifiques se font rares, une espèce en déclin va alors se reproduire avec des individus hétérospécifiques qui sont, eux, plus fréquemment rencontrés (Grant et Grant, 1997; Hubbs, 1955). Le phénomène a d'ailleurs été observé chez plusieurs espèces animales telles que, par exemple, certaines espèces de crapets (Grant et Grant, 1997; Hubbs, 1955; Jansson *et al.*, 2007; Randler, 2002). En effet, dans des étangs où la végétation est très dense et où les zones en gravier favorisées pour la frai sont limitées, les poissons se retrouvent donc indument surpeuplés dans ces zones. Une espèce rare a ainsi du mal à trouver un partenaire parmi une espèce plus abondante et cela conduit alors à des événements d'hybridation (Hubbs, 1955).

1.2.2.1.1 Introgression

Finalement, grâce à des processus tels que l'introgression, les hybrides peuvent ainsi conserver la signature génétique d'une espèce disparue (Glemet *et al.*, 1998). L'introgression est un flux asymétrique d'allèles entre des populations causé par les rétrocroisements entre les hybrides et l'une ou les deux populations d'espèces parentales (Anderson et Hubricht, 1938). Ceci peut éventuellement mener à la fixation

de gènes d'une espèce dans le bagage génétique d'une autre espèce (GleMET *et al.*, 1998). L'introggression peut être nucléaire ou mitochondriale, cette dernière pouvant mener au remplacement complet de l'ADN mitochondrial d'une espèce par celui d'une autre (GleMET *et al.*, 1998).

Par exemple, en Amérique du Nord, l'aire de répartition géographique de l'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*) chevauche celle de l'omble de fontaine (*S. fontinalis*) (GleMET *et al.*, 1998). Des événements d'hybridation sont alors observés dans les lacs où les deux espèces sont retrouvées en sympatrie. Cependant, l'introggression de l'ADN mitochondrial de *S. alpinus* dans des populations de *S. fontinalis* a été notée dans des sites où l'omble chevalier y est pourtant absent actuellement. Cette introggression a laissé une signature génétique indiquant donc que l'espèce y était autrefois présente, mais qu'elle y est maintenant disparue (GleMET *et al.*, 1998).

Cependant, la fixation complète de gènes hétérospécifiques dans le bagage génétique d'une espèce est limitée par la capacité des hybrides, devant être des femelles fertiles, à se reproduire via des rétrocroisements avec l'une ou l'autre des espèces parentales (Rhymer and Simberloff, 1996; Smith, 1992). En effet, ces hybrides doivent posséder la même capacité à se reproduire que les espèces parentales et posséder également un effectif suffisamment important au sein des populations parentales afin d'éviter que les gènes hétérospécifiques soient éliminés par dérive génétique (Dowling *et al.*, 1989; Smith, 1992). De plus, les hybrides ne doivent pas être soumis à des pressions de sélection sexuelle, c'est-à-dire une préférence des espèces parentales envers les individus conspécifiques, ou de sélection naturelle contre les gènes hétérospécifiques (Dowling *et al.*, 1989; Smith, 1992). Bref, la production d'une telle signature génétique est donc très peu fréquente et, par conséquent, retracer l'ancienne répartition géographique de la majorité des espèces éteintes n'est pas possible.

1.3 Reproduction clonale chez les vertébrés

Par contre, certains événements d'hybridation engendrent des hybrides asexués se reproduisant de façon clonale (Dawley, 1989). Chez les vertébrés, la reproduction clonale est rare et n'est observée que chez approximativement 80 espèces de reptiles, amphibiens et poissons (Neaves et Baumann, 2011). Tous ces vertébrés asexués proviennent d'événements d'hybridation interspécifiques entre des espèces sexuées (Dawley, 1989). Alors que les espèces asexuées se multiplient par bourgeonnement, fragmentation, fission, propagules ou autres modes de multiplication (De Meeûs *et al.*, 2007), les hybrides asexués issus d'hybridation entre des espèces sexuées sont en mesure de faire, au même titre que leurs parents sexués, de la gamétogenèse (Vrijenhoek, 1989). Les hybrides engendrés sont généralement tous des femelles qui vont se reproduire via l'un des trois différents modes de reproduction clonale ou hémiclonale : la parthénogenèse, la gynogenèse et l'hybridogenèse (Neaves et Baumann, 2011; Vrijenhoek, 1989). En absence de ségrégation et de recombinaison, la progéniture produite par reproduction clonale est donc génétiquement identique à la mère.

1.3.1 Parthénogenèse

La parthénogenèse consiste en la production d'œufs non réduits qui vont se développer spontanément sans la contribution du sperme d'un mâle d'une des espèces sexuées parentales (Neaves et Baumann, 2011). Exceptionnelle chez les vertébrés, la parthénogenèse n'est observée que chez des espèces de reptiles, plus particulièrement chez les squamates (Neaves et Baumann, 2011). Par exemple, certaines populations de *Leiolepis ngovantrii*, un lézard endémique du Vietnam, sont composées uniquement de femelles se reproduisant par parthénogenèse (Grismer et Grismer, 2010). Ces populations ne possèdent aucun mâle et tous les individus sont des clones génétiquement identiques.

1.3.2 Gynogenèse

La gynogenèse, retrouvée uniquement chez les poissons et les amphibiens, correspond à la production d'œufs non réduits où, contrairement à la parthénogenèse,

le sperme d'un mâle d'une des deux espèces parentales est nécessaire afin d'activer l'embryogenèse (Goddard *et al.*, 1998). Cependant, le génome de celui-ci n'est pas incorporé au génome de l'œuf. La gynogenèse est fréquente chez les vertébrés asexués. Les poissons *Poecilia formosa*, *Carrassius auratus gibelio* et *Chrosomus eos-neogaeus* ainsi que les salamandres hybrides du complexe *Ambystoma lateral-jeffersonianum* sont des exemples d'espèces utilisant ce mode de reproduction (Elinson *et al.*, 1992; Goddard *et al.*, 1998; Nanda *et al.*, 1995; Zhou *et al.*, 2000).

1.3.3 Hybridogenèse

Dans le cas de l'hybridogenèse, les femelles produisent des œufs réduits, nécessitant d'être fécondés par le sperme d'un mâle d'une autre espèce sexuée, où l'haplome paternel est exclu lors de l'ovogenèse de sorte que seul l'haplome maternel est contenu dans les gamètes (Neaves et Baumann, 2011). L'hybridogenèse est donc un mode de reproduction hémiclonal puisque seul l'haplome maternel est transmis de façon clonale d'une génération à l'autre (Neaves et Baumann, 2011), l'haplome paternel étant remplacé à chaque génération. Ce mode de reproduction est également limité aux poissons et aux amphibiens. Un exemple est l'hybride *Pelophylax esculentus* qui résulte de l'hybridation entre la grenouille rieuse (*Pelophylax ridibundus*) et la grenouille de Lessona (*Pelophylax lessonae*). Bien que l'hybride possède le génome de chacune des espèces parentales, seulement le génome de l'une d'entre elles sera transmis à la progéniture (Holsbeek et Jooris, 2010).

1.4 Le complexe *Chrosomus eos-neogaeus*

Le complexe *Chrosomus eos-neogaeus* est formé du méné ventre rouge du Nord (*Chrosomus eos*) ainsi que du méné ventre citron (*Chrosomus neogaeus*) deux espèces de Cyprinidae. Les événements d'hybridation entre ces deux espèces impliquent constamment *C. eos* comme espèce paternelle et *C. neogaeus* comme espèce maternelle. L'hybride, *Chrosomus eos-neogaeus*, est un hybride unisexe femelle se reproduisant par gynogenèse (Figure 1, Goddard *et al.*, 1998). Les juvéniles produits forment ainsi une lignée clonale et différents événements d'hybridation vont entraîner l'émergence de différentes lignées clonales (Angers et Schlosser, 2007). Un

seul événement d'hybridation suffit donc pour laisser une signature génétique. En effet, les hybrides asexués vont conserver de façon intacte la diversité génétique des espèces parentales à travers le temps et l'espace. Ce qui permet ainsi de retracer leur ancienne répartition géographique et de reconstituer l'histoire des événements d'hybridation.

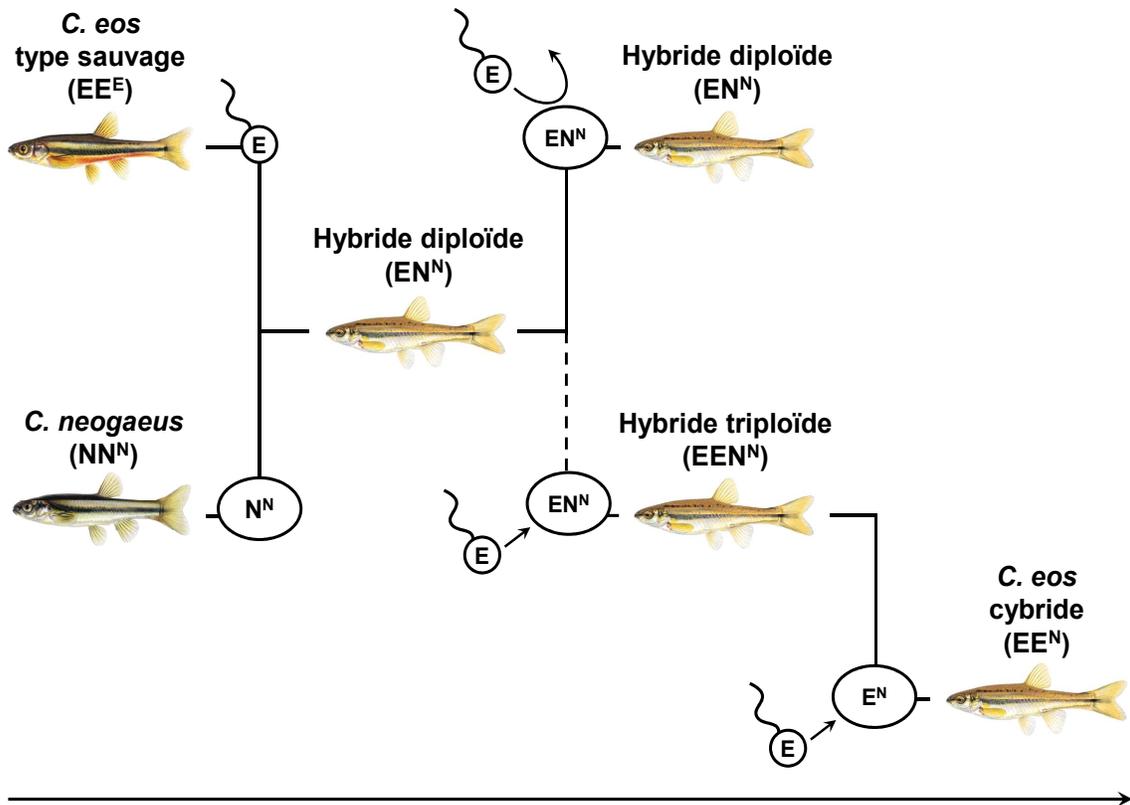


Figure 1. Reproduction clonale par gynogénèse chez les hybrides asexués du complexe *Chromosomus eos-neogaeus*. Les hybrides entièrement femelles produisent des œufs non réduits qui ne seront pas fécondés malgré la nécessité du sperme d'une ou l'autre des espèces parentales pour déclencher l'embryogenèse.

D'autres biotypes font également partie du complexe *C. eos-neogaeus* dont les hybrides triploïdes et les cybrides (Dawley *et al.*, 1987; Dawley et Goddard, 1988; Goddard et Schultz, 1993). Les triploïdes sont exclusivement produits *de novo* suite à l'incorporation du matériel génétique mâle dans un œuf hybride diploïde (Goddard *et*

al., 1989; Leung et Angers, 2017). La fécondation des œufs diploïdes avec le sperme de l'hôte sexué se produit à un taux de 50% (Goddard et Dawley, 1990). Les triploïdes ne se reproduisent pas de façon clonale (Goddard et Schultz, 1993) et sont supposément stériles pour la plupart puisque la triploïdie est souvent associée à la stérilité chez les vertébrés (Benfey, 1999; Lampert *et al.*, 2007; Leung et Angers, 2017; Nanda *et al.*, 1995).

Cependant, les triploïdes vont occasionnellement engendrer des œufs haploïdes (Goddard et Schultz, 1993). Lorsque ces œufs sont fécondés par le spermatozoïde de *C. eos*, des individus désignés cybrides vont être produits (Binet et Angers, 2005; Goddard et Schultz, 1993). Ceux-ci possèdent le génome nucléaire de *C. eos*, mais le génome mitochondrial de *C. neogaeus*. La production de cybrides est survenue plusieurs fois, mais pas de façon continue puisqu'elle semble être seulement occasionnelle (Angers *et al.*, 2018).

1.4.1 Répartition géographique du complexe

Les membres du complexe *C. eos-neogaeus* possèdent une large répartition géographique au centre et nord-est de l'Amérique du Nord, principalement dans les régions couvertes par les glaciers lors de la dernière glaciation du Pléistocène (Scott et Crossman, 1973). Bien que la répartition de chacun des biotypes soit très similaire, celle de *C. neogaeus* couvre des régions plus nordiques que celle de *C. eos*. Les hybrides, quant à eux, sont retrouvés sur l'ensemble de l'aire de répartition des espèces parentales (Scott et Crossman, 1973). Finalement, les membres du complexe se retrouvent en sympatrie ou en allopatrie dans divers cours d'eau lents, ruisseaux, étangs et lacs marécageux.

1.4.2 Situation du complexe au Québec

Au Québec, dans les régions des Laurentides et de l'Estrie, *C. eos* (autant les individus de type sauvage que les cybrides) est abondant et largement répandu (Angers *et al.*, 2018; Angers et Schlosser, 2007, Vergilino *et al.*, 2016). Cependant, les cybrides sont moins abondants en Estrie comparativement aux individus *C. eos* sauvages

(Angers *et al.*, 2018). Pour ce qui est de *C. neogaeus*, l'espèce est très rare dans les deux régions où elle a été recensée dans seulement 3 sites sur plusieurs centaines de sites échantillonnés (Angers et Schlosser, 2007, Vergilino *et al.*, 2016).

Cependant, de nombreux hybrides y sont retrouvés. Dans les Laurentides, très peu de lignées d'hybrides sont observées et l'une d'entre elles a la particularité de dominer la quasi-totalité des lacs de la région (Angers et Schlosser, 2007, Vergilino *et al.*, 2016). Tandis qu'en Estrie, une grande diversité de lignées distinctes possédant une répartition très réduite est plutôt observée (Angers et Schlosser, 2007, Vergilino *et al.*, 2016).

1.4.2.1 Différentes signatures génétiques

1.4.2.1.1 Hybridation au Pléistocène

Dans les Laurentides, une telle signature génétique résulte d'événements d'hybridation étant survenus, dans les refuges glaciaires, au cours de la glaciation du Pléistocène il y a plus de 10 000 ans (Angers et Schlosser, 2007). Suite à la déglaciation, les lignées d'hybrides ont bénéficié des lacs pro-glaciaires ainsi que des ponts temporaires entre les réseaux hydrographiques pour se disperser (Angers et Schlosser, 2007; Curry, 2007; Mandrak et Crossman, 1992; Parent et Occhietti, 1999). Ces lignées possèdent donc une large répartition géographique.

1.4.2.1.2 Hybridation à l'Holocène

En Estrie, des événements d'hybridation *in situ* survenus au cours de l'Holocène, après la colonisation postglaciaire, donc depuis les 10 000 dernières années, expliquent plutôt la diversité de lignées d'hybrides observée. Comme les lignées ont été engendrées localement dans des réseaux hydrographiques isolés similaires aux réseaux actuels, elles possèdent une très petite répartition géographique (Angers et Schlosser, 2007; Vergilino *et al.*, 2016). Les lignées sont donc uniques à un site ou retrouvées dans des sites très rapprochés. De plus, il existe une correspondance entre la diversité génétique des lignées d'hybrides et celles des populations d'espèces parentales sympatriques (Vergilino *et al.*, 2016).

1.5 Objectif

Des hybrides engendrés au cours du Pléistocène peuvent être retrouvés coexistant avec des populations de *C. neogaeus* (Angers et Schlosser, 2007). Cependant, il a été démontré que l'abondance d'hybrides *in situ* en Estrie coïncide avec l'absence de l'espèce maternelle *C. neogaeus* dans la région (Vergilino *et al.*, 2016). Comme des événements d'hybridation *in situ* semblent rares chez la plupart des hybrides unisexués (mais voir Quattro *et al.*, 1991) ainsi que chez le complexe *Chrosomus eos-neogaeus*, ceci soulève alors des questions concernant la ou les causes du taux élevé d'hybridations spontanées en Estrie (Angers et Schlosser, 2007).

L'objectif de l'étude est donc d'inférer les changements démographiques de *C. neogaeus* en fonction de la structure géographique d'événements d'hybridation. Pour répondre à cet objectif, un large échantillonnage latitudinal a été réalisé afin d'obtenir une vue d'ensemble à plus grande échelle de la répartition géographique des membres du complexe au Québec. Cet échantillonnage s'est étalé de la région de la Chaudière-Appalaches, au nord de la région de l'Estrie précédemment échantillonnée par Vergilino *et al.* (2016), jusqu'à la région du Bas-Saint-Laurent. Une étude temporelle à long terme a pu ensuite être réalisée en analysant la répartition des lignées d'hybrides ainsi que leur diversité, indicative du temps écoulé depuis les événements d'hybridation, afin de tester divers scénarios biogéographiques. Dans un site donné, les hybrides peuvent y avoir migré à partir des refuges glaciaires ou y avoir été engendrés de façon *in situ* suite au déclin démographique de *C. neogaeus*. Diverses prédictions peuvent alors être faites en fonction de la répartition géographique des hybrides. Trois répartitions distinctes sont attendues.

1.6 Hypothèses

1.6.1 *C. neogaeus* est absent dans toute la zone échantillonnée

Tout d'abord, les hybrides sont présents dans tous les réseaux hydrographiques en absence de *C. neogaeus*.

Si les hybrides proviennent d'événements d'hybridation *in situ*, l'extinction de l'espèce maternelle *C. neogaeus* serait la conséquence ultime de son déclin. Par contre, comme l'espèce se serait éteinte dans l'ensemble des sites, il ne serait pas possible de déterminer si son extinction aurait été causée par des changements climatiques.

Si les hybrides ont plutôt été engendrés au cours du Pléistocène avant de se disperser, l'explication la plus parcimonieuse de l'absence de *C. neogaeus* serait la présence de barrières ayant empêché la colonisation de l'espèce vers ces sites. En effet, la dispersion des individus à partir des refuges glaciaires était limitée par les corridors de migration temporaires offerts par les anciens réseaux hydrographiques (Curry, 2007; Mandrak et Crossman, 1992; Parent et Occhietti, 1999).

1.6.2 Historiques de colonisation postglaciaire

Deuxièmement, la présence des hybrides et de *C. neogaeus* varie d'un bassin versant à l'autre.

Ceci serait expliqué par le fait que la répartition géographique de *C. neogaeus* dans chaque bassin versant a été façonnée par des histoires de colonisation postglaciaires distinctes. Il existera donc une corrélation entre les bassins versants et l'origine des individus y ayant migré. Si les individus *C. neogaeus* de différents refuges glaciaires possèdent des adaptations différentes, ils peuvent alors avoir répondu différemment aux changements climatiques postglaciaires (Hewitt, 2000; Hewitt, 2004; Maggs *et al.*, 2008; Stewart *et al.*, 2010). Ceci aurait provoqué des événements d'hybridation *in situ* lorsque *C. neogaeus* n'était pas en mesure de pouvoir s'adapter à des environnements changeants.

1.6.3 Changements climatiques postglaciaires

Enfin, la présence des hybrides et de *C. neogaeus* varie selon un gradient géographique.

Ceci s'expliquerait par des changements climatiques si les hybrides *in situ* sont abondants dans le sud, où les conditions climatiques seraient devenues défavorables à *C. neogaeus* et auraient entraîné son extinction. Cependant, en allant vers le nord, où les conditions seraient encore favorables, l'abondance des hybrides *in situ* diminuera progressivement alors que celle de *C. neogaeus* augmentera. Associé à ce scénario, une variation du nombre de lignées d'hybrides produites *in situ* devrait également être observée. Au sud, où les hybridations sont anciennes, la sélection a entraîné la disparition de certaines lignées, diminuant ainsi leur nombre. En se dirigeant vers le nord, où les hybridations *in situ* sont de plus en plus récentes en raison de changements climatiques récents, le nombre de lignées augmente avant de tomber à zéro lorsque les conditions sont de nouveau favorables.

En absence de barrières entre les réseaux hydrographiques à la fin de la glaciation, un tel gradient pourrait aussi être le résultat de la colonisation des hybrides engendrés durant le Pléistocène, et de *C. neogaeus* à partir de refuges glaciaires différents. Selon ce scénario, les hybrides ont colonisé à partir d'un refuge au sud alors que *C. neogaeus* à partir d'un refuge au nord ou vice versa. Ceci entraîne alors un gradient quant à l'abondance de ces deux biotypes qui va diminuer en s'éloignant du refuge duquel les individus proviennent.

2 Article : Shift in species distribution inferred through hybridization events

Katherine Monette, Christelle Leung, Joelle Lafond, Julian Wittische and Bernard Angers

2.1 Abstract

Shifts in the geographical distribution of species are strongly influenced by climate change. In areas where conditions become unfavorable, demographic decline precedes the extinction of a species. During this decline, hybridization events may occur when individuals of a scarce species breed with more abundant heterospecific individuals (Hubbs principle). A previous study in Southern Quebec (Canada), detected several *in situ* hybridization events involving females *Chrosomus neogaeus* and males *Chrosomus eos*, although *C. neogaeus* is nearly absent from the region. This has been achieved thanks to the asexual reproduction mode of hybrids which then preserve the genetic diversity of parental species intact. This study aimed to assess the demographic changes of *C. neogaeus* according to the geographic pattern of hybridization events. A large latitudinal sampling was performed to determine the geographical distribution of members of the *C. eos-neogaeus* complex and test different biogeographical scenarios. While *C. neogaeus* was present across all drainage basins sampled, a correlation between drainages and the glacial origin of individuals that colonized them revealed different postglacial colonization histories. However, a latitudinal gradient was observed regarding the hybrid diversity. In the south, results revealed a large occurrence of *in situ* hybridizations, but these became less common going north. This latitudinal pattern could be interpreted as a northward shift in the *C. neogaeus* geographical distribution and constitutes additional evidence of a large-scale environmental change in freshwater aquatic ecosystems.

Keywords: Demographic changes, hybridization events, geographical distribution, climatic changes, finescale dace, *Chrosomus neogaeus*, *Chrosomus eos-neogaeus* complex

2.2 Introduction

Large-scale climate change may modify the geographical distribution of species. Since the end of the Pleistocene glaciation, so during the last 10,000 years, climatic conditions have drastically changed. A $\sim 5^{\circ}\text{C}$ global temperature warming followed the end of glaciation while, during past decades, a near 1°C global temperature increase has been noted (Hansen and Sato, 2012; Papalexiou *et al.*, 2018). As a consequence to such climatic changes, in the Northern Hemisphere, at the northern limit of a species' range, habitats that once had limiting conditions became available (Alofs, 2014). However, at the other end of the distribution, conditions may have become unfavorable, which may have led to the extinction of populations (Thomas *et al.*, 2004). This resulted in a northward displacement of species' distributions during the last 10,000 years, as has been reported in multiple species including fishes (Alofs, 2014; Chu *et al.*, 2005; Comte *et al.*, 2013).

Extinct species occasionally left historical traces, providing evidence of the impacts of climate change on species distribution. On a time scale spanning thousands of years, isotopes, trace elements, fossils, scales, shells and plant seeds or pollen can be found in distinct layers of sediments throughout time (Lotze and Worm, 2009). However, only a fraction of former species (<1% to a few percent) can be recovered, as not all species left fossil traces (Behrensmeyer *et al.*, 1979; Raup, 1994). Such traces are strongly affected by a species' abundance, as well as body size and constitution (presence of hard body parts). Small bones are more susceptible to destruction by bioturbation and the physical and chemical processes of weathering. Therefore, more abundant and larger species will have a higher probability of being fossilized and sampled (Behrensmeyer *et al.*, 1979; Raup, 1994).

Historical traces of species driven to extinction may also persist in contemporary organisms such as hybrids. Prior to extinction, the demographic decline of a species can lead to hybridization events. According to the Hubbs principle (Hubbs, 1955), a declining species is expected to breed with more abundant heterospecific individuals as conspecific individuals become scarce. This phenomenon has been observed in several

animal species like *Salvelinus alpinus* (Glemet *et al.*, 1998; Grant and Grant, 1997; Hubbs, 1955; Jansson *et al.*, 2007; Randler, 2002). Hybridization events involving *S. alpinus* and *S. fontinalis* have been reported in lakes where the former species is now extinct (Glemet *et al.*, 1998).

Through processes such as introgression, hybrids can retain the genetic signature of an extinct species (Glemet *et al.*, 1998). Introgression represents an asymmetric flow of alleles between populations caused by backcrossing between hybrids and one or both parental species populations (Anderson and Hubricht, 1938). However, in the case of introgression, fixation of the foreign haplotype in the nuclear background is limited by maternal inheritance to offspring from backcrosses between fertile female hybrids and parental species (Rhymer and Simberloff, 1996; Smith, 1992). Therefore, such genetic signatures are infrequent and tracing the former geographic distribution of an extinct species can be challenging.

Interestingly, some hybridization events can lead to unisexual hybrids reproducing clonally (Dawley, 1989). When such hybrids occur, it freezes the genotype of both parents through time, enabling the reconstruction of the history of extinction. Fishes from the *Chrosomus eos-neogaeus* complex (Cyprinidae, Teleostei) include clonal hybrids resulting from hybridization between the common paternal species, northern redbelly dace (*Chrosomus eos*), and the scarcer maternal species, finescale dace (*Chrosomus neogaeus*) (Goddard *et al.*, 1998). These hybrids reproduce clonally via gynogenesis: the sperm of either parental species is required to trigger embryogenesis but is not incorporated into the egg's diploid genome (Goddard *et al.*, 1998).

Members of the *C. eos-neogaeus* complex have a wide distribution in North America and are mostly located in regions previously covered by the last Pleistocene ice sheet (Scott and Crossman, 1973). Hybrids produced during the Pleistocene can be found coexisting with *C. neogaeus* populations (Angers and Schlosser, 2007). However, previous studies reported a multitude of *in situ* hybridization events in the southeastern region of Quebec (Canada) coinciding with the near absence of maternal species *C.*

neogaeus (Angers and Schlosser, 2007; Vergilino *et al.*, 2016). Since *in situ* hybridization events appear to be rare in most sperm-dependent unisexual hybrids (but see Quattro *et al.* (1991)), as well as in the *C. eos-neogaeus* complex, this raises questions on the cause(s) of the high rates of spontaneous hybridization in this region (Angers and Schlosser, 2007).

This study aimed to assess the demographic changes of *C. neogaeus* according to the geographic pattern of hybridization events. To address this objective, a latitudinal sampling was performed, north of the southeastern region, to get a large-scale overview of the geographic distribution of members of the *C. eos-neogaeus* complex over 500km. The presence of hybrids at a given site may be explained by colonization from glacial refuges or *in situ* hybridization events as a consequence of the decline of *C. neogaeus*. We therefore inferred the origin of hybrids to discriminate among three possible biogeographical scenarios. According to each scenario, specific predictions can be made regarding the distribution of these hybrids.

In the first scenario, hybrids are found in all drainage basins, while *C. neogaeus* is absent. If hybrids originated from *in situ* hybridization events, the extinction of the maternal species *C. neogaeus* occurred as a consequence of its decline. However, we would not be able to conclude that the extinction was related to climate changes if *C. neogaeus* disappeared from all study sites, as observed by Vergilino *et al.* (2016). If hybrids were rather produced during the Pleistocene, the most parsimonious explanation for the absence of *C. neogaeus* would be that *C. neogaeus* did not have the same opportunity of colonization as hybrids. This could be, for instance, due to the presence of barriers that hampered the colonization of that species toward these sites, as dispersal from glacial refuges was limited to temporary migration corridors between past hydrographic networks (Curry, 2007; Mandrak and Crossman, 1992; Parent and Occhietti, 1999).

In the second biogeographical scenario, the presence of hybrids and *C. neogaeus* is explained by drainage basins. The distribution of *C. neogaeus* in each drainage basin has been shaped by distinct postglacial colonization histories from the

Mississippian and Atlantic glacial refuges where *C. neogaeus* populations migrated from. As a result, a correlation exists between drainages and the origin of the individuals that colonized them. If *C. neogaeus* from different glacial refuges displayed distinct adaptations, they could have responded differently to postglacial or more recent climatic changes (Hewitt, 2000; Hewitt, 2004; Maggs *et al.*, 2008; Stewart *et al.*, 2010). This hypothesis could explain *in situ* hybridization events when *C. neogaeus* could not adapt to changing environments, while no *in situ* hybrids occurred otherwise.

Lastly, in the third possible scenario, the presence of hybrids and *C. neogaeus* varies according to a latitudinal gradient. This would be explained by climatic changes if *in situ* hybrids were found in the south, where climatic conditions might have become unfavorable for *C. neogaeus*, leading to its extinction. However, in northward sites where conditions would still be favorable, the presence of *in situ* hybrids decreases and that of *C. neogaeus* increases. Associated with this scenario, a lower diversity of *in situ* hybrid lineages would be found in the south since hybridization events happened longer ago. Going north, where *in situ* hybridizations happened more recently due to more recent climatic changes, the diversity of lineages will increase and drop to zero when conditions are favorable again. Alternatively, in the absence of barriers between hydrographic networks at the end of glaciation, such a gradient could also result from the colonization of hybrids (produced during the Pleistocene) and *C. neogaeus* from different glacial refuges. In this scenario, hybrids would have colonized from a southern refuge and *C. neogaeus* from a northern refuge, or vice versa. This would have led to a gradient of those biotypes decreasing when moving further away from the glacial refuge they originated from.

2.3 Methods

2.3.1 Sampling sites and identification

A total of 57 sites were sampled in the Chaudière-Appalaches and the Lower St-Lawrence regions in Quebec (Canada) (Figure 2, Additional files 1 and 2). External morphological characteristics were used to visually identify sampled individuals as

Chrosomus eos, *C. neogaeus* and hybrids (New, 1962). DNA was extracted from a small piece of the upper lobe of the caudal fin and individuals were released afterwards. Confirmation of the visual identification was performed using the genetic markers developed by Binet and Angers (2005).

Those sampled sites, coupled with those of the previous survey in the southern part of East-Qc (Vergilino *et al.*, 2016), form a near 500km-long transect. This transect is long enough to detect a latitudinal gradient caused by an environmental effect since a temperature gradient can be measured. Records from 1981 to 2010 of four meteorological stations, each separated by ~250km (Figure 2), revealed a mean annual air temperature difference from 5.7°C to 2.7°C between the southernmost to the northernmost stations (Additional file 4).

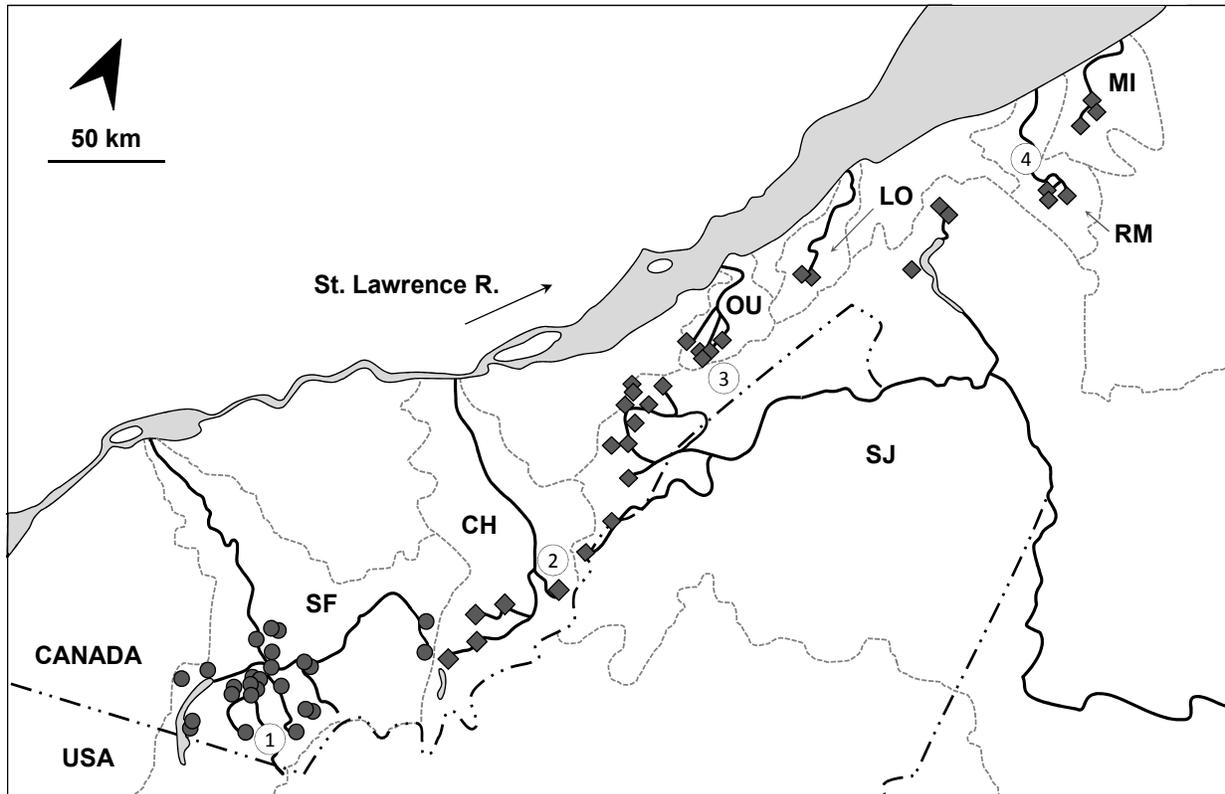


Figure 2. Map of south eastern Quebec (Canada) with geographic locations of sampling sites. Sites where *C. eos*, *C. neogaeus* and/or hybrid *C. eos-neogaeus* individuals were detected in the current survey are indicated by diamonds. Sites previously analyzed by Vergilino *et al.* (2016) in the southern most region are indicated by circles. Dotted lines delimit the drainage basin of the Saint-Francois (SF), Chaudière (CH), Saint-Jean (SJ), Ouelle (OU) and Du Loup (LO) rivers. All these systems belong to the St. Lawrence River drainage except for SJ, which drains into the Atlantic Ocean. Open circles refer to meteorological stations 1-Coaticook, 2-Saint-Côme-de-Linière, 3-Sainte-Perpétue and 4-Trinité-des-Monts.

2.3.2 Glacial refugial origin of *C. neogaeus* mtDNA

We first assessed the glacial refugial origin of *C. neogaeus* mtDNA (from *C. neogaeus* species, hybrids and cybrids) to infer the possible post-glacial colonization routes of these fishes. Cybrids originated from the fertilization of a *C. eos* haploid egg

from triploids by *C. eos* sperm (Angers *et al.*, 2018; Binet and Angers, 2005; Goddard and Schultz, 1993). As a result, these individuals possess the nuclear genome of *C. eos* but the mitochondrial genome of *C. neogaeus*. Distinction between hybrids and *C. eos* wild type was made following Binet and Angers (2005). Assessing the *C. neogaeus* mtDNA glacial origin enabled us to detect whether there was a correlation between drainage basins and the individuals that colonised them.

Previous sequencing of the mitochondrial ND5 gene (Angers *et al.*, 2018) revealed a nucleotide diversity allowing the design of a Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) assay to discriminate the haplotypes of the Mississippian (A) and Atlantic (F) refuges (Binet and Angers, 2005; Mee and Taylor, 2012). A 559bp segment of this gene was amplified using 5'-GTGACGGTCCCCCTAATTGG and 5'-TGGCATCCTTTGAGAAGAACC primers, then digested with the restriction enzyme *Nla*III. The Mississippian haplotype is characterized by four fragments (45, 130, 171 and 213bp), whereas the segment remains uncut for the Atlantic form. The same procedure was performed to characterize *C. eos* hybrids populations.

To determine whether postglacial colonisation history differently affected the biotypes of the complex, the relationship between sites' specific compositions (Jaccard index) from each glacial refuge and the drainage basins, as categorical variables, was computed through a Distance-Based Redundancy Analysis (dbRDA) using the *capscale* and *RsquareAdj* functions of the *vegan* package for the R3.4.1 software (Oksanen *et al.*, 2008). The p-value of the correlation was obtained with the *anova.cca* function.

2.3.3 Diversity of hybrid lineages

For all individuals identified as hybrids, a multilocus genotype was determined according to the size variation of microsatellite loci *Seat*412, *Ca*-12, *Pho*-60, *Pho*-1, *Pho*-2 and *Rhca*-20 (Angers and Schlosser, 2007; Binet and Angers, 2005; Skalski and Grose, 2006). Loci *Seat*412, *Ca*-12 and *Rhca*-20 amplify both *C. eos* and *C. neogaeus* genomes, while *Pho*-60, *Pho*-1 and *Pho*-2 are specific to the *C. eos* genome. Therefore, hybrid genotypes were characterized by a total of nine nuclear loci.

A hybrid lineage was defined by all individuals originating from a given hybridization event. As the clonal reproduction of hybrids leads to the absence of recombination and segregation, individuals of a given lineage are thus expected to display the same multilocus genotype (Angers and Schlosser, 2007). However, due to the high mutation rate of microsatellite loci, variants could be detected. They generally differed by a single mutation at one or a few loci. Thereby, a lineage was characterized by a consensus genotype defined by the allele of invariant loci and the more abundant allele for the variable loci (Angers and Schlosser, 2007; Vergilino *et al.*, 2016).

In the *Chrosomus eos-neogaeus* complex, a high proportion of triploid hybrids are produced *de novo* following the incorporation of the spermatozoid genome into a diploid egg (Goddard *et al.*, 1989; Leung and Angers, 2018). Since triploid hybrids display both the consensus multilocus genotype of a given hybrid lineage and the spermatozoid haplome, it was possible to identify the hybrid lineage from which they derived. However, when no match could be made between a triploid genotype and any of the consensus lineages, this triploid genotype was considered an additional lineage for which it was not possible to determine the hybrid genotype.

Divergence among clones of a given lineage was determined according to the average number of pairwise difference under a strict stepwise mutations model (Angers and Schlosser, 2007; Ohta and Kimura, 1973). Since only mutations that occurred after hybridization events could provide polymorphism within a given lineage, the average number of stepwise mutations was expected to be lower than those between consensus genotypes of different lineages resulting from a random sampling of alleles in both parental species.

Hybridization events that occurred in glacial refuges during the Pleistocene and those that occurred *in situ* during the Holocene were expected to display specific signatures according to their genetic composition and their geographic distribution. First, hybrid lineages produced from *in situ* hybridization events were expected to match the genetic diversity of the sympatric parental populations. Populations of more than 10 individuals for the parental species *C. eos* were genotyped using the same nuclear

makers as those used for hybrids. Hybrid lineages were assigned to *C. eos* populations using all *C. eos* nuclear loci. Hybrid lineages represented by a single triploid individual were not included in this analysis. The likelihood that the *C. eos* multilocus haplotype of a given hybrid lineage originated from one *C. eos* population was computed based on allele frequencies (Paetkau *et al.*, 1995). The frequency of missing alleles was set at 10^{-5} and the probability was estimated by simulating 10,000 individuals based on Cornuet *et al.*'s algorithm (1999), using the method implemented in GeneClass2 (Piry *et al.*, 2004). A percentage score for each population was calculated by dividing the assignment likelihood of each population to the sum of likelihoods across all populations tested.

Second, lineages produced during the Pleistocene also display a geographic distribution different from those produced *in situ*. Hybrids produced during the Pleistocene took advantage of pro-glacial lakes and temporary bridges among hydrographic networks to spread throughout drainage basin(s) (Curry, 2007; Mandrak and Crossman, 1992; Parent and Occhietti, 1999). This resulted in lineages with a widespread distribution (Angers and Schlosser, 2007; Vergilino *et al.*, 2016). In contrast, hybrid lineages produced *in situ* during the Holocene occurred in isolated hydrographic networks similar to the current landscape. These lineages were therefore expected to display a narrow geographic distribution limited to distinct sub-drainage basins, as was observed by Vergilino *et al.* (2016).

2.3.4 Geographical distribution of hybrid lineages

To assess the factors influencing the number of hybrid lineages per site, we used a Generalized Linear Model (GLM) with a logarithm link function and a Poisson distribution function as the assumed response distribution (Dunteman and Ho, 2005; Nelder and Baker, 1972). The overdispersion was evaluated to determine if a Poisson regression was indeed appropriate. The GLM was performed using the *car* and *ROCR* packages for the R3.4.1 software (Fox *et al.*, 2007; Sing *et al.*, 2005). Latitude, longitude, the drainage basins (categorical variables) and their interactions were considered in the analysis. Prior to model selection, the Variance Inflation Factors

(VIFs) for the full model were computed. Then, predictors with VIF values above 7 were removed until there were no predictors with values higher than 7 (O'brien, 2007). Models with AIC values within 2 of the lowest AIC value and models with the lowest mean square error, evaluated by leave-one-out cross-validation, were considered (Burnham and Anderson, 2003). The most parsimonious model, so with the fewest variables, was picked as the best model when several models were selected. To assess whether our best model was indeed better than a null model (intercept-only), and assuming a known dispersion, a Chi-squared test comparing the best model to a null model was used. Similarly, in case there were interactions between the predictors of our best model, we tested whether it was better than a similar model without interactions. Then, a pseudo-R² was calculated to assess model performance (McFadden, 1973).

2.4 Results

2.4.1 Distribution of biotypes

Individuals of the *C. eos-neogaeus* complex were captured in 32 of the 57 sites (Figure 3, Additional file 1). The three biotypes were found throughout all drainage basins (Figure 3, Additional file 1). The parental species *C. eos* (including both wild type and cybrid) and *C. neogaeus* were sampled in 21 and 13 sites, respectively, while hybrids were found in 19 sites (Additional file 1). Hybrids and both parental species were sympatric in 10 sites. Furthermore, we found parental species, but no hybrids, in 2 sites. Hybrids were found in sympatry with either *C. eos* or *C. neogaeus* in 6 sites and 1 site, respectively. A total of 3 sites contained exclusively *C. eos* individuals, while no site contained only *C. neogaeus*. Hybrids without parental species were sampled in 2 sites. However, parental species may not have been detected in those sites due to the low number of captures at those sites (≤ 6 individuals). In all sites, triploid hybrids were *Chrosomus eos* × *eos-neogaeus* (EEN), indicating that *C. eos* is the frequent sperm donor. However, in site CH-2, the presence of *Chrosomus neogaeus* × *eos-neogaeus* (ENN) was detected, indicating that *C. neogaeus* can also be a sperm provider. Triploid individuals were identified as EEN or ENN according to their heterozygosity to either *C. eos* or *C. neogaeus* microsatellite loci, respectively.

2.4.2 Diversity of hybrid lineages

The genetic survey of hybrid individuals revealed a total of 41 distinct lineages (Additional file 3). We were able to define a specific multilocus genotype for 32 of them, while the 9 remaining were represented by a single triploid individual for which it was not possible to characterize the hybrid genotype. There was an average of 69.30 (SD=30.00) stepwise mutations among the consensus multilocus genotype of 27 lineages (with more than 1 individual). There was a minimum of 18 stepwise mutations and a maximum of 200 stepwise mutations between the most distant genotypes. In contrast, an average of 2.89 (SD=3.53) stepwise mutations was estimated among clones for lineages with more than a single individual. The number of mutations among consensus genotypes *versus* the number among individuals of a given lineage did not overlap except for one individual of the A33 lineage that differed from the consensus genotype by 19 mutations. However, since it differed at only one locus and was found in sympatry with other individuals of the A33 hybrid lineage, this individual was conservatively considered to be from the same lineage.

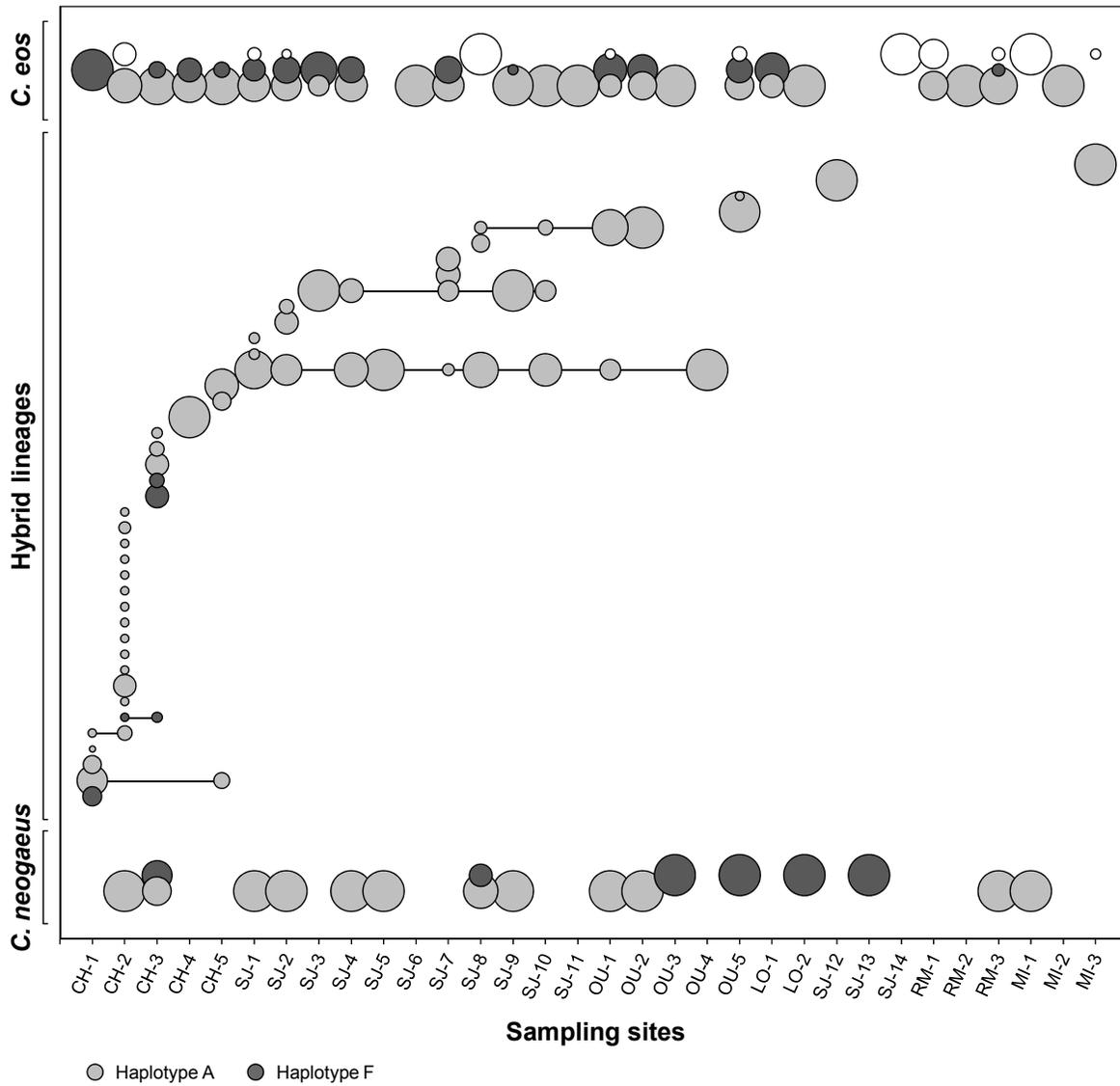


Figure 3. Biotypes and hybrid lineages distribution. Sites are displayed according to their latitudes and relative to each other (Additional file 1). Circled areas refer to the relative abundance of each biotypes and hybrid lineages within a given site. Horizontal lines connect lineages that were found in more than one site. Colors refer to the *C. neogaeus* mtDNA haplotype: grey circles represent Mississippian and black circles represent Atlantic. Open circles refer to the *C. eos* wild type.

A total of 26 hybrid lineages were found at the five sampling sites analyzed for *C. eos* genetic diversity (Table 1). Analysis performed using all loci indicated that 15 of the 26 lineages were assigned with the highest probability to their respective sympatric *C. eos* populations (Table 1). Three of the 26 lineages (A05, A08 and A15) were characterized by a single triploid *Chrosomus neogaeus* × *eos-neogaeus*. However, these lineages have a haploid genome for *C. eos* that had been clonally transmitted since hybridization. These lineages were assigned to their sympatric *C. eos* population when we performed the assignment test using only *C. eos* specific loci (all loci except Seat-412 and Ca-12). These results support the existence of *in situ* hybridization events for 18 of those 26 lineages assigned to the sympatric *C. eos* population. Of those 18 lineages, all displayed a narrow geographic distribution, as they were limited to a single site or a few geographically close sites.

Table 1. Results of the assignment of hybrid lineages to the *Chrosomus eos* populations. Assignment scores of the *C. eos* genotype for the 26 hybrid lineages detected to a given *C. eos* population (Additional file 1). Shaded cells indicate sampling sites where hybrid lineages were detected. Bold numbers refer to significant assignments ($p < 0.05$).

Lineages	All loci without triploid hybrids					All hybrids without loci Seat412 and Seat12				
	CH-2	CH-3	SJ-2	SJ-7	OU-5	CH-2	CH-3	SJ-2	SJ-7	OU-5
	n=11	n=17	n=15	n=12	n=15	n=11	n=17	n=15	n=12	n=15
F02	99.79	33.56	82.52	25.22	58.35	99.19	38.13	69.10	37.09	37.55
A04	99.61	11.43	63.82	26.89	36.49	97.80	34.83	38.16	38.59	10.69
A05	-	-	-	-	-	99.47	35.32	78.65	36.37	35.42
A06	95.01	11.48	67.30	9.50	6.00	92.00	8.46	36.78	37.89	10.83
A07	96.96	28.33	34.22	9.19	14.56	95.51	33.47	38.16	36.37	10.46
A08	-	-	-	-	-	97.80	34.83	78.65	94.48	37.55
A09	71.12	14.28	69.94	59.85	29.73	45.69	8.46	39.67	36.37	10.46
A10	98.92	38.43	33.12	36.65	88.80	99.19	38.13	33.60	37.09	90.57
A11	99.79	55.08	70.38	25.49	29.94	99.73	92.45	42.74	37.58	35.42
A12	30.87	53.91	65.54	9.82	6.04	44.60	83.96	39.67	9.61	11.02
A13	98.20	9.50	9.50	8.10	41.80	97.80	8.85	11.40	9.02	40.02
A14	98.69	55.38	59.56	54.17	90.61	80.74	36.18	83.28	9.61	89.38
A15	-	-	-	-	-	86.88	8.71	80.55	9.53	36.62
A16	59.90	24.20	32.60	25.80	39.50	42.96	8.46	36.78	37.89	40.63
A17	32.00	9.40	14.50	0.70	1.80	15.78	1.32	2.45	1.46	2.03
F03	63.96	61.51	16.31	9.68	29.94	96.96	95.53	38.16	9.53	35.42
F04	30.87	62.31	16.31	60.35	32.74	43.25	94.72	12.72	99.45	37.20
A01	99.30	11.70	35.10	8.40	12.70	99.19	8.46	39.67	36.37	10.46
A18	26.80	99.46	97.46	6.76	84.90	35.64	98.32	90.30	6.48	78.37
A19	15.29	95.38	35.91	8.75	62.72	46.44	99.71	84.68	32.52	89.38
A27	61.48	27.38	91.32	25.86	90.00	44.60	92.45	81.77	94.89	86.24
A28	61.01	31.40	95.96	9.62	62.35	44.28	97.90	85.95	38.17	84.54
A30	31.98	57.73	95.78	99.99	60.01	44.77	35.62	88.43	98.32	35.42
A31	34.05	56.61	65.36	99.79	96.72	15.74	94.72	40.10	97.50	93.67
A34	28.95	57.18	37.71	58.34	92.92	41.14	94.72	88.43	96.75	89.38
A35	13.54	54.35	15.22	0.86	14.13	44.77	83.96	11.51	1.46	10.69

2.4.3 Glacial refugial origin of *Chrosomus neogaeus* mtDNA

Mitochondrial analysis revealed that *C. neogaeus*, hybrids and cybrids populations can harbor haplotype A, assigned to the Mississippian glacial refuge, or haplotype F, from the Atlantic glacial refuge (Figure 3). The presence of *C. neogaeus* mtDNA from the Mississippian refuge was detected in 30 sites (93.75%), while that of the Atlantic refuge was detected in 19 sites (59.38%). Furthermore, all hybrids harbored the A haplotype, except in three sites (CH-1, CH-2 and CH-3) from the southernmost drainage where the F haplotype was also detected (Figure 3).

Results of the dbRDA analysis (Figure 4) revealed a significant correlation between drainage basins and the glacial origin of the biotypes that colonized them ($R^2=0.2773$, $R^2_{adj}=0.1689$, $p=0.001$). *C. eos* wild types (WT) were mostly restricted to the southernmost drainage (SF). The distribution of cybrids according to their glacial refugial origins is represented by vectors in opposite directions for cybrids from the Mississippian and Atlantic refugia. *C. neogaeus* from the Atlantic refugium are found in drainages north of the SF drainage basin. Finally, hybrids are more abundant in the southern drainage basins.

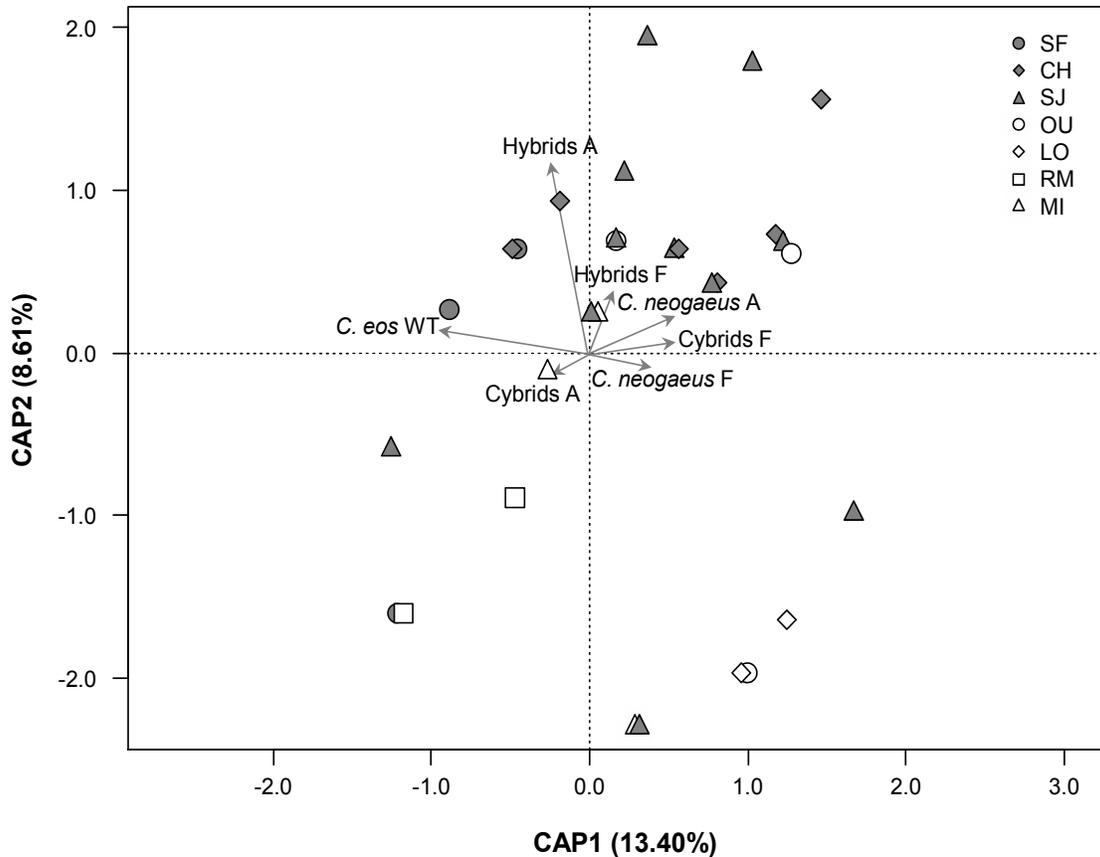


Figure 4. Effects of postglacial colonisation history on the different biotypes. Results of the Distance-Based Redundancy Analysis (dbRDA) showed the relationship between sites' specific compositions (Jaccard index) from each glacial refuge and drainage basins.

2.4.4 Geographical distribution of hybrid lineages

Distribution of hybrid lineages revealed a strong geographic trend. A high diversity of lineages was detected in the south part of the sampling area, but less diversity was found when going northward (Figure 3, Additional file 1). When strictly considering the southernmost sampled basin (CH), 27 of the 41 lineages (65.85%) were found, but this represents only 5 (26.32%) of the 19 sites where hybrids were captured (Figure 3, Additional file 1). For instance, up to 15 lineages on 25 individuals were found in sympatry (site CH-2).

As the lineage diversity decreases, several lineages displaying a large geographic distribution were detected (Figure 3). Indeed, the presence of three lineages (A24, A29 and A33) was detected in 12 of the 14 remaining sites where hybrids were sampled. More specifically, these lineages were found in 4 (28.57%), 5 (35.71%) and 9 (64.28%) sites, respectively.

Coupling the latitudinal survey performed in the current study with the results of the previous survey in the southern part of East-Qc (Vergilino *et al.*, 2016) reveals increasing diversity of hybrid lineages from the southernmost sampling sites to those located in the CH drainage where the higher diversity was detected (Figure 5). However, going north, diversity rapidly decreases and the same lineages were detected in most sites (Figure 5). This geographical trend was confirmed through a GLM as the latitude, the drainage basins and the interaction of both came out as the model with the lowest AIC value and the lowest mean square error. Also, the overdispersion is low (1.5055), so a Poisson regression was indeed appropriate. The model is also significantly better than a null model ($p=0.0093$) and a model without interactions ($p=0.0022$). Finally, the pseudo- R^2 of 20.2979 indicates good model performance. Indeed, McFaddens's pseudo- R^2 values ranging from 0.2 to 0.4 represent excellent fit (McFadden, 1977).

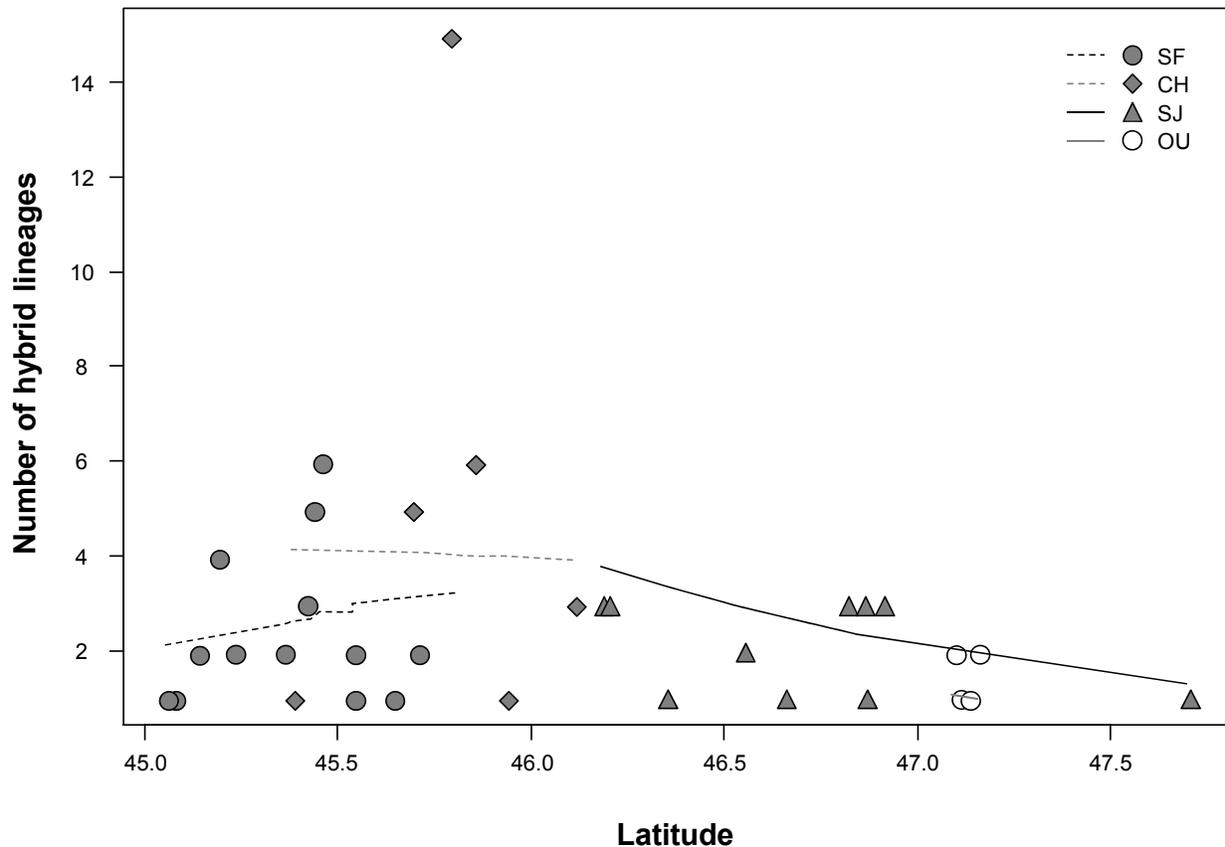


Figure 5. Number of hybrid lineages per site of each drainage basin according to latitude. Based on the model selected by GLM, lines refer to the predicted number of hybrid lineages per site according to latitude, drainage basins and the interaction of both. Drainage basins with only 1 or 2 sites harboring hybrids were excluded from the analysis, since no variation could then be measured between sites.

2.5 Discussion

The objective of this study was to infer the demographic changes of *C. neogaeus* according to the geographic pattern of hybridization events. Different biogeographical scenarios could be inferred from the geographic distribution of hybridization events, whether they varied according to drainage basins or to a geographical gradient. This survey revealed striking results, since both hydrographic networks and latitude were strongly correlated with both hybrid diversity and *C. neogaeus* abundance.

Surprisingly, *C. neogaeus* was present in all hydrographic basins sampled in this study. This sharply contrasts with previous studies performed in southern Quebec where *C. neogaeus* was nearly extinct in the Saint-François (SF) drainage, which is southerly adjacent to the survey place of the current study (Angers and Schlosser 2007; Vergilino *et al.*, 2016). That *C. neogaeus* was abundant throughout the sampling area despite the presence of hybrids confirms that its decline in East-Qc (Vergilino *et al.*, 2016) was not the result of competitive exclusion by hybrids.

Hybrids were also found throughout the sampling area, but a large heterogeneity was detected in the distribution of diversity. A very high diversity of lineages produced *in situ* was observed in the southernmost sampled sites. When going northward (SJ, LO and OU drainages), diversity decreased and was characterized by only a few hybrid lineages with a large geographic distribution, likely migrant lineages produced during the Pleistocene. Indeed, hybrids lineages displaying such a widespread distribution could only have benefited from pro-glacial lakes and temporary bridges among hydrographic networks to spread throughout drainage basin(s) (Curry, 2007; Mandrak and Crossman, 1992; Parent and Occhietti, 1999).

2.5.1 Glacial refugial origin of *Chrosomus neogaeus* mtDNA

Postglacial colonization history alone does not explain the current distribution of *C. neogaeus* and hybrids, even if it may have played an important role. Indeed, *C. neogaeus* with haplotypes A or F were abundant throughout the sampling area. However, only haplotype A had been previously detected in SF drainage (Vergilino *et al.*, 2016). These observations indicated that individuals from Mississippian refuges colonized the region northward and were able to disperse through the whole region thanks to temporary migration corridors. In contrast, individuals with haplotype F likely colonized the region southward from the Atlantic refuge. Therefore, they arrived later in the southern drainage basins, after the disappearance of pro-glacial temporary bridges between the SF and CH drainages. The same scenario likely occurred for cybrids, as individuals with either haplotype A or F were found throughout the sampling sites, whereas no haplotype F individuals were found in SF (Angers *et al.*, 2018). However, no

geographical gradient of *C. neogaeus* or hybrids originating from different glacial refuges was observed, as *C. neogaeus* mtDNA haplotypes from both the Mississippian and Atlantic refuges were found in populations across the sampling area, from CH to MI.

The presence of *C. neogaeus* harboring haplotype F therefore appears to be correlated with the persistence of *C. neogaeus* from the Mississippian refugium. This could be the result of genetic rescue or demographic advantage thanks to the presence of individuals from the Atlantic refuge, but these hypotheses have yet to be tested. *C. neogaeus* populations' isolation in distinct glacial refuges during the Pleistocene glaciations resulted in genetic differentiation (Bernatchez, 1997; Hewitt, 2000; Hewitt, 2004; Maggs *et al.*, 2008; Stewart *et al.*, 2010; Todd and Hatcher, 1993). As a result, *C. neogaeus* from distinct refuges likely display different adaptations to environmental conditions. Nevertheless, since multiple *in situ* hybridization events occurred in the CH drainage basin, despite the presence of both haplotypes, the advantages brought by haplotype F only delayed the decline of *C. neogaeus*.

2.5.2 *In situ* hybridization events

The hybrid individuals sampled in this study clustered in 41 distinct lineages. Such a high number of lineages is consistent with a previous survey in East-Qc in which 36 lineages were detected (Vergilino *et al.*, 2016). The number of stepwise mutations among genotypes is 24 times larger than the average number of pairwise difference within a lineage. This ruled out the probability of derived clones from a unique hybridization event, as has been observed in *Poeciliopsis monacha-occidentalis* and *Poecilia formosa* (Lampert *et al.*, 2005; Quattro *et al.*, 1992), and confirmed that hybrid lineages have been produced through distinct hybridization events (Delmotte *et al.*, 2003).

In situ hybridization events in the *C. eos-neogaeus* complex have appeared to be rare in other regions of North America investigated so far (Angers and Schlosser, 2007). The results of the present survey provide further evidence that sympatry of parental

species is not sufficient to explain hybridization between both species. Indeed, two sites (OU-3 and LO-2) where *C. eos* and *C. neogaeus* were found in sympatry were sampled during two consecutive years and no hybrids were detected. This indicates that *C. eos* and *C. neogaeus* species generally do not reproduce together. However, the scarcity of *C. neogaeus* likely triggers hybridization according to the Hubbs principle (Hubbs, 1955). This is consistent with the results of Vergilino *et al.* (2016) in which *C. neogaeus* disappeared from most sites where *in situ* hybridization events occurred.

In the southern part of the CH drainage basin, 27 distinct hybrid lineages were detected in only five sites (CH-1 to CH-5). These lineages were found within the same sub-drainage basin, which supports the hypothesis that hybridization events occurred locally. Moreover, the narrow distribution of these lineages indicates that hybridization events occurred after the disappearance of pro-glacial temporary bridges between drainages. Such a hybrid lineage distribution matches the pattern resulting from *in situ* hybridization events and is similar to what was observed in East-Qc where no *in situ* lineages were found across different sub-drainage basins (Angers and Schlosser, 2007; Vergilino *et al.*, 2016). Moreover, assignment tests revealed a close genetic relationship between those hybrids and sympatric *C. eos* populations, as most of the hybrids tested were assigned to their respective *C. eos* populations, thus confirming that they were indeed produced *in situ*.

Furthermore, the *C. neogaeus* mtDNA analysis revealed that all hybrid lineages harbored the A haplotype except four lineages located in the southernmost sites (CH-1 to CH-4). This suggests that the contribution of the Atlantic refuge to the geographical distribution of hybrids appears to be limited, as noted by Angers and Schlosser (2007) and Mee and Taylor (2012). Therefore, the four hybrid lineages harboring the F haplotype were most likely produced during the Holocene from the Atlantic *C. neogaeus* populations that colonized those southern sites. This further supports the fact that hybridization events in the south occurred *in situ*.

In the north, most of the hybrids sampled belong to very few lineages. The widespread distribution of three hybrid lineages (A24, A29 and A33) suggests they

originated from hybridization events that occurred during the Pleistocene, prior to the colonization of these sites. Hybrid lineages from the Pleistocene took advantage of proglacial temporary bridges between drainages and, therefore, can be found across multiple current isolated hydrographic networks. This pattern is common in other sperm-dependent unisexual hybrid species (Cunha *et al.*, 2004; Janko *et al.*, 2005; Quattro *et al.*, 1992). This was also observed in the *Chrosomus eos-neogaeus* complex in the Laurentians region of Quebec (West-Qc), where the B-01 lineage is abundant in lakes located in several distinct drainage basins (Angers and Schlosser, 2007; Vergilino *et al.*, 2016).

2.5.3 Geographical gradient of hybrid lineages

The survey performed in the current study, coupled with the previous survey in the southern part of East-Qc (Vergilino *et al.*, 2016), confirmed that the distribution of hybrid lineages is organized according to latitude. The diversity of hybrid lineages increases from the southernmost sampling sites (Vergilino *et al.*, 2016) to those located in the CH drainage (this study), where the highest diversity was detected. However, going north, diversity rapidly decreases and the same lineages were detected in most sites. This pattern appears to be the result of two distinct processes.

First, *in situ* hybridization events are expected to generate a high diversity of lineages, since each zygote can evolve in a distinct hybrid lineage. This number can be high, especially in organisms such as fishes that can produce thousands of eggs. Then, through generations, random processes related to lineages sorting, as well as selection, reduce the number of lineages. Therefore, the diversity of lineages at a given site likely depends on the time elapsed since the hybridization events. This suggests that hybridization events first occurred in the south, as fewer hybrid lineages are left, while the high diversity in the northern part of SF and in CH reflects more recent hybridization events. A spectacular example is site CH2, where 15 lineages were detected.

Second, the presence of hybrids does not necessarily involve *in situ* hybridization events, since hybrids may have also dispersed from glacial refuges. However, the

colonization of hybrids during the postglacial expansion is expected to result in a low number of lineages, but with widespread geographical distribution (Angers and Schlosser, 2007). Then, such a low diversity of hybrids can be interpreted as the absence of *in situ* hybridization events.

This whole picture suggests different temporal signals in the demography of *C. neogaeus*. In the southernmost drainages such as SF, *C. neogaeus* declined and then hybridized with *C. eos* before going extinct (Vergilino *et al.*, 2016). Further north in the CH drainage, the high diversity of hybrid lineages, combined with the presence of *C. neogaeus*, suggests that the species is currently undergoing decline. Finally, in northward drainages, *C. neogaeus* is still abundant and only rare *in situ* hybridization events were detected.

2.5.4 Climatic changes

The latitudinal gradient regarding the hybrid lineages' diversity suggests a large-scale environmental effect. Environmental changes following the end of the Pleistocene may have triggered the demographic decline of *C. neogaeus*, increasing the probability of interspecific mating by *C. neogaeus* females. However, the very high diversity of hybrid lineages in the CH drainage (especially in the CH-2 site) leads us to believe more recent climatic changes might also be involved. Indeed, the great diversity of hybrid lineages in CH-2, combined with the presence of *C. neogaeus*, suggests that the maternal species is currently undergoing a demographic decline. Changing environments might therefore cause the decline of *C. neogaeus*, as *in situ* hybridization of individuals with both haplotype F and A were observed in regions characterized by higher averages of temperature.

A significantly increasing trend in mean water temperature and precipitation, associated with temperature variations, has been observed over the past decades in Southern Quebec (Hudon *et al.*, 2010; Yagouti *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2000). River water temperature is primarily modulated by seasonal air temperature variations, but smaller streams' temperatures are greatly affected by changes in flow regime (Hudon *et*

al., 2010). Numerous freshwater fish species, like the yellow perch (*Perca flavescens*), the lake sturgeon (*Acepenser fulvescens*) and the Atlantic salmon (*Salmo salar*), have declined in number due to changes in temperature and water levels affecting reproductive rates, spawning habitats, nutrient availability and water physicochemistry reaching lethal levels (Bourduas *et al.*, 2017; Daigle *et al.*, 2015; Farmer *et al.*, 2015). Several freshwater fishes are then expected to undergo a northward shift in their geographical distribution as a result of climate warming (Chu *et al.*, 2005; Sharma *et al.*, 2007). While the specific change in environmental conditions responsible for the decline of *C. neogaeus* in Southern Quebec remains to be elucidated, current climate warming may explain the northern shift observed in the geographical distribution of the species, a phenomenon already reported in multiple species including fishes (Alofs, 2014; Chu *et al.*, 2005; Comte *et al.*, 2013).

2.6 Conclusion

It is difficult to measure environmental impacts of climate changes on species without a baseline from which to measure change. Indeed, in order to make predictions about species current distribution shift, further understanding the influence of past climate changes and how species responded to those changes is required. Current shifts in species' distribution are mostly measured based on data from the last decades. However, *C. eos-neogaeus* hybrids, due to their asexual reproduction mode, preserve the genetic diversity of parental species intact, an uncommon phenomenon in vertebrates. Therefore, different past biogeographical scenarios can be inferred from current populations. *In situ* hybridization events appear to be then a useful biological indicator to track the demographic decline of *C. neogaeus* as the genetic signature of these hybrids permits a long-term temporal survey. Using this genetic signature, we detected a geographic distribution of haplotypes from distinct glacial refuges correlated to drainage basins. Which supports different postglacial colonization histories. Also, the latitudinal pattern of hybrid diversity detected in this study could be interpreted as a northward shift in the geographical distribution of *C. neogaeus* as observed in other

species. This constitutes additional evidence of a large-scale environmental change in freshwater aquatic ecosystems.

Additional file 1. Characteristics of the sampled sites. Biotypes refer to *Chrosomus eos* (E), *C. neogaeus* (N) and hybrids (H).

Sites	Latitude	Longitude	Altitude (m)	Biotypes (n)			No. of hybrid lineages	Hybrid lineages
				E	H	N		
Chaudière								
CH-1	N 45° 41' 10.25"	W 70° 55' 01.39"	474	1	456	0	5	F01, A01, A02, A03, A04
CH-2	N 45° 46' 59.81"	W 70° 51' 13.73"	464	13	24	4	15	F02, A04, A05, A06, A07, A08, A09, A10, A11, A12, A13, A14, A15, A16, A17
CH-3	N 45° 50' 45.32"	W 70° 53' 19.69"	380	19	16	29	6	F02, F03, F04, A18, A19, A20
CH-4	N 45° 56' 02.90"	W 70° 47' 37.51"	376	3	4	0	1	A21
CH-5	N 46° 06' 29.74"	W 70° 24' 50.23"	416	7	21	0	3	A01, A22, A23
Saint-Jean								
SJ-1	N 46° 10' 52.88"	W 70° 18' 18.98"	419	10	15	11	3	A24, A25, A26
SJ-2	N 46° 11' 22.72"	W 70° 18' 40.60"	415	21	16	7	3	A24, A27, A28
SJ-3	N 46° 20' 40.62"	W 70° 14' 48.00"	395	8	1	0	1	A29
SJ-4	N 46° 32' 42.08"	W 70° 14' 38.51"	397	5	3	2	2	A24, A29
SJ-5	N 46° 39' 05.50"	W 70° 14' 35.82"	454	0	4	23	1	A24
SJ-6	N 46° 40' 19.28"	W 70° 10' 16.85"	404	4	0	0	-	-
SJ-7	N 46° 48' 54.35"	W 70° 13' 45.12"	487	21	12	0	4	A24, A29, A30, A31
SJ-8	N 46° 51' 27.36"	W 70° 10' 12.90"	408	1	11	10	3	A24, A32, A33
SJ-9	N 46° 51' 45.52"	W 70° 10' 37.08"	417	17	2	3	1	A29
SJ-10	N 46° 54' 33.69"	W 70° 14' 23.55"	367	3	8	0	3	A24, A29, A33
SJ-11	N 46° 55' 50.41"	W 70° 04' 22.41"	375	1	0	0	-	-
SJ-12	N 47° 42' 04.99"	W 68° 59' 36.43"	273	0	6	0	1	A36
SJ-13	N 47° 55' 03.00"	W 68° 57' 16.00"	277	0	0	1	-	-
SJ-14	N 47° 55' 41.00"	W 68° 50' 53.00"	306	1	0	0	-	-
Ouelle								
OU-1	N 47° 05' 23.20"	W 69° 51' 50.63"	297	17	4	3	2	A24, A33
OU-2	N 47° 06' 31.60"	W 69° 53' 52.33"	336	15	2	9	1	A33
OU-3	N 47° 06' 32.21"	W 70° 00' 30.79"	362	9	0	7	-	-
OU-4	N 47° 07' 33.20"	W 69° 50' 40.42"	316	0	0	1	1	A24
OU-5	N 47° 09' 12.58"	W 69° 48' 26.52"	361	25	22	1	2	A34, A35
Du Loup								
LO-1	N 47° 30' 44.92"	W 69° 32' 24.87"	344	12	0	0	-	-
LO-2	N 47° 32' 15.86"	W 69° 35' 07.43"	263	8	0	4	-	-

Sites	Latitude	Longitude	Altitude (m)	Biotypes (n)			No. of hybrid lineages	Hybrid lineages
				E	H	N		
Rimouski								
RM-1	N 48° 05' 02.00"	W 68° 32' 47.00"	273	2	0	0	-	-
RM-2	N 48° 06' 43.00"	W 68° 31' 50.00"	277	2	0	0	-	-
RM-3	N 48° 08' 05.00"	W 68° 25' 04.00"	309	11	0	6	-	-
Mitis								
MI-1	N 48° 19' 33.00"	W 68° 18' 54.00"	324	3	0	1	-	-
MI-2	N 48° 18' 15.00"	W 68° 14' 32.00"	318	2	0	0	-	-
MI-3	N 48° 29' 38.00"	W 68° 14' 27.00"	315	16	1	0	1	A37

Additional file 2. Sampled sites where no individuals of the *Chrosomus eos-neogaeus* complex were found.

Drainage basins	Latitude	Longitude
Chaudière	N 45° 40' 41.24"	W 70° 54' 42.99"
	N 45° 42' 10.16"	W 70° 53' 35.01"
	N 45° 43' 01.42"	W 70° 52' 11.41"
	N 45° 43' 17.05"	W 70° 51' 59.84"
	N 45° 44' 44.99"	W 70° 53' 39.16"
	N 45° 48' 11.94"	W 70° 51' 16.55"
	N 45° 50' 16.91"	W 70° 51' 21.26"
	N 45° 56' 26.20"	W 70° 30' 45.30"
	N 45° 57' 11.11"	W 70° 31' 20.33"
	N 46° 00' 30.48"	W 70° 35' 22.56"
	N 46° 05' 14.96"	W 70° 20' 01.32"
Saint-Jean	N 46° 10' 27.71"	W 70° 18' 00.51"
	N 46° 18' 50.45"	W 70° 23' 48.07"
	N 46° 21' 58.62"	W 70° 23' 01.93"
	N 46° 21' 12.51"	W 70° 21' 53.18"
	N 46° 20' 07.22"	W 70° 13' 46.89"
	N 46° 22' 13.75"	W 70° 11' 36.83"
	N 46° 22' 54.53"	W 70° 12' 34.83"
	N 46° 23' 12.01"	W 70° 12' 54.91"
	N 46° 47' 35.99"	W 70° 10' 27.53"
	N 46° 49' 22.64"	W 70° 13' 57.89"
	N 46° 49' 41.19"	W 70° 14' 22.05"
	N 46° 50' 28.81"	W 70° 15' 35.36"
	N 46° 50' 37.52"	W 70° 15' 43.47"
	N 46° 51' 20.21"	W 70° 10' 00.84"
	N 46° 52' 38.78"	W 70° 11' 48.74"
	N 47° 27' 32.29"	W 69° 27' 02.74"
N 47° 40' 40.58"	W 69° 00' 24.84"	
N 47° 46' 29.32"	W 69° 01' 26.90"	
Ouelle	N 47° 49' 31.94"	W 69° 02' 07.19"
	N 47° 08' 27.66"	W 70° 03' 22.84"
Du Loup	N 47° 29' 57.48"	W 69° 30' 09.37"
	N 47° 31' 31.60"	W 69° 34' 04.56"

Additional file 3. Consensus nuclear genotype and mitochondrial glacial origin of the different hybrid lineages. Glacial refuges M and A refer respectively to the Mississippian and Atlantic glacial refuges. Allele size refers to the more common clone and bold characters to variable loci within a given lineage. Asterisk refers to triploid individuals for which the hybrid genotype was not determined for a given locus.

Hybrid lineages	Nuclear loci						Glacial refuges	Sample size	
	Seat412	Ca-12	Pho-60	Pho-1	Pho-2	Rhca-20			
						<i>C. neogaeus</i>			<i>C. eos</i>
F01	218/ 258	197/205	204	314	188	98	NULL	A	10
F02	222/ 226	193 /251	152	314	180	102	NULL	A	2
F03	214 / 222	201/ 317	160	302	110	102	NULL	A	7
F04	226/230	211/245	156	290	184	102	NULL	A	2
A01	226 /266	189 / 207	164	306	164	98	160	M	25
A02	222 / 230	207 / 281	-	314	256	102	156	M	9
A03	218/242	209/303	-	294	184	102	140	-	1
A04	226 / 266	197/205	156	310	110	102	160	M	3
A05	214/218	189/193/197*	160	306	180	102	NULL	M	1
A06	208 / 258	215/ 285	164	290	232	102	NULL	M	7
A07	218/226	189/207	164	286	110	102	NULL	M	1
A08	226/266	197/241/251*	164	306	192	102	160	M	1
A09	218/226	201/251	164	306	240	98	NULL	M	1
A10	204/208/226*	205/223/321*	152	314	188	102	160	M	1
A11	208/222/266*	215/269	148	306	110	102	160	M	1
A12	218/272	197/215	156	282	110	98	160	M	1
A13	210/218/262*	209/223/269*	152	278	188	102	NULL	-	1
A14	210/214	201/265	156	302	232	102	NULL	-	1
A15	214/222/262*	211/241	164	302	232	102	NULL	-	1
A16	222/258	241/285	164	294	232	102	NULL	-	2
A17	226/258	211/251	164	294	244	98	NULL	-	1
A18	218/ 222	197/ 227	-	302	216	98	152	M	5
A19	244 /248	247/ 257	152	306	216	102	NULL	M	2
A20	230/232/242*	205/211/251*	152	286/322*	192/212*	102	NULL	-	1

Hybrid ligneages	Nuclear loci						Glacial refuges	Sample size	
	Seat412	Ca12	Pho-60	Pho-1	Pho-2	Rhca-20			
						<i>C. neogaeus</i>			<i>C. eos</i>
A21	210/214	243/263	208	306	252	-	-	M	4
A22	218/222	219/ 301	136	314	184	102	152	M	5
A23	218/234	197/247	140	286	168	102	132	M	14
A24	218/226	197/233	148	298	176	102	128	M	42
A25	220/267	207/253	152	326	180	102	148	-	1
A26	196/250/280*	196/213/235*	140/148*	298/314*	196/232*	102	136	-	1
A27	226/238	193/239	148	274	196	102	NULL	M	5
A28	226/284	207/215	160	302	212	102	144	M	2
A29	210/282	201/231	156	310	208	102	144	M	9
A30	222/ 274	197/213	148	286	204	102	144	M	4
A31	222/ 258	205/243	160	294	212	102	144	M	4
A32	210/274	207/309	148	278	200	102	NULL	M	2
A33	210/248	201/243	152	262	220	102	136	M	7
A34	214/234	213/309	156	286	212	102	128	M	21
A35	256/286	247/343	204	322	252	102	NULL	-	1
A36	242/248	201/ 317	156	326	240	102	160	M	6
A37	222/226/240*	197/231	148/172*	-	220	102	NULL	M	1

Additional file 4. Mean temperature over 30 years, from 1981 to 2010, at different meteorological stations (MSDEFACC, 2018).

Month	Mean temperature (°C) at meteorological stations			
	Coaticook	Saint-Côme-de-Linière	Sainte-Perpétue	Trinité-des-Monts
Jan.	-9.8	-12.1	-13.6	-13.9
Feb.	-7.8	-10.0	-11.3	-11.8
Mar.	-2.4	-4.3	-5.9	-6.1
Apr.	5.3	3.6	1.8	2.0
May	11.9	10.5	9.5	9.2
Jun.	17.0	15.6	14.9	14.4
Jul.	19.3	18.1	17.4	17.2
Aug.	18.4	17.0	16.3	16.1
Sep.	14.0	12.5	11.4	11.4
Oct.	7.3	6.1	4.8	5.0
Nov.	1.3	0.0	-2.2	-1.6
Dec.	-6.0	-7.7	-9.2	-9.4
Annual	5.7	4.1	2.8	2.7

3 Discussion générale

L'objectif de cette étude était de déterminer les changements démographiques du mené ventre citron (*Chrosomus neogaeus*) en fonction de la structure géographique d'événements d'hybridation. Différents scénarios biogéographiques ont pu être testés; à savoir si la répartition des membres du complexe *Chrosomus eos-neogaeus* variait en fonction des différents bassins versants ou plutôt en fonction d'un gradient géographique. Cette étude a permis de révéler qu'il existe une forte interaction entre les réseaux hydrographiques et la latitude en ce qui concerne l'abondance de *C. neogaeus* ainsi que la diversité des hybrides.

Premièrement, en contraste avec le bassin versant de la rivière Saint-François (SF), *C. neogaeus* est abondant dans le bassin CH ainsi que dans les autres bassins plus au nord (SJ, LO et OU). Deuxièmement, des hybrides sont retrouvés dans toute la zone d'échantillonnage, mais une grande diversité de lignées, résultant d'événements d'hybridation *in situ*, est observée dans le bassin versant CH. La même observation avait été faite dans le bassin (SF) dans la région de l'Estrie (Angers et Schlosser 2007, Vergilino *et al.*, 2016). Ailleurs, cette diversité est plutôt faible avec seulement quelques lignées d'hybrides produites au cours du Pléistocène possédant une large répartition géographique.

Ces résultats révèlent différents signaux temporels concernant la démographie de *C. neogaeus*. Dans le bassin SF, *C. neogaeus* était en déclin, puis s'est hybridé avec *C. eos* avant de s'éteindre. Dans le bassin CH, la grande diversité de lignées d'hybrides combinée à la présence de *C. neogaeus* suggère que l'espèce est actuellement en déclin tandis que, vers le nord, elle ne l'est pas. En effet, l'espèce y est encore abondante et seulement quelques rares événements d'hybridation *in situ* ont été détectés.

3.1 Abondance et origine glaciaire de *Chrosomus neogaeus*

Chrosomus neogaeus est abondant et présent dans la majorité des sites échantillonnés à travers tous les bassins versants. Cela confirme que, durant la

colonisation postglaciaire, aucune barrière géographique n'a entravé la dispersion de l'espèce et que l'extinction de *C. neogaeus* est bel et bien limitée à la région de l'Estrie. De plus, cette découverte permet de réfuter l'hypothèse que le déclin de *C. neogaeus* soit le résultat d'une exclusion compétitive de l'espèce maternelle *C. neogaeus* par les hybrides asexués (Vergilino *et al.*, 2016). En effet, ces derniers possèdent un avantage démographique face au «twofold cost of sex» (Smith et Maynard-Smith 1978). C'est-à-dire que, comme les hybrides n'ont pas à produire de mâles et que l'intégralité de leur génome est transmise, ils sont donc avantagés par rapport à l'espèce sexuée. Malgré cet avantage démographique, la reproduction asexuée chez les vertébrés est peu fréquente puisqu'elle est limitée à des hybrides issus d'un croisement entre deux espèces sexuées (Dawley, 1989). Bref, les hybrides *C. eos-neogaeus* sont avantagés par rapport à *C. neogaeus*, mais l'espèce est tout de même abondante dans toute la zone d'échantillonnage malgré le fait qu'elle se trouve en sympatrie avec des hybrides. Cela confirme donc que son déclin dans la région de l'Estrie n'a pas été causé par une exclusion compétitive par les hybrides.

De plus, les historiques de colonisation postglaciaire n'expliquent pas à eux seuls la répartition géographique de *C. neogaeus* et des hybrides même s'ils peuvent y avoir joué un rôle important. En effet, des populations de *C. neogaeus* possédant autant l'haplotype A que F ont été retrouvées sur l'ensemble du transect échantillonné. Par contre, seulement l'haplotype A a été détecté dans le bassin versant SF (Angers *et al.*, 2018; Vergilino *et al.*, 2016). Ce qui indique que les individus provenant du refuge glaciaire mississippien ont été les premiers colonisateurs de la région et qu'ils se sont par la suite dispersés dans l'ensemble des bassins versants à partir du sud. Le refuge glaciaire atlantique, quant à lui, était localisé plus au nord et a donc été libéré plus tard suivant le retrait du glacier à la fin du Pléistocène (Curry, 2007; Dyke et Prest, 1987; Mandrak et Crossman, 1992). L'absence de l'haplotype F dans le bassin SF suggère qu'au moment de la colonisation des individus du refuge atlantique, les ponts temporaires pro-glaciaires entre les bassins SF et CH avaient disparu. Les individus ont donc plutôt emprunté le fleuve Saint-Jean pour ensuite coloniser à partir du nord. Le même scénario s'est probablement produit chez les cybrides puisque l'haplotype A est

également retrouvé dans tous les bassins versants échantillonnés tandis que l'haplotype F, lui, est absent du bassin SF (Angers *et al.*, 2018). Cependant, aucun gradient géographique de *C. neogaeus* et d'hybrides provenant de différents refuges glaciaires n'a été observé. En effet, les haplotypes mitochondriaux de *C. neogaeus* provenant des deux refuges glaciaires ont été observés dans les populations à travers toute la zone d'échantillonnage, du bassin CH jusqu'au bassin MI.

Les mêmes observations ont également été faites chez d'autres espèces de poissons dont les haplotypes, provenant de refuges glaciaires distincts, n'ont pas emprunté les mêmes corridors de migration au moment de la colonisation postglaciaire (Bailey et Smith, 1981; Bernatchez, 1997; Bernatchez et Wilson, 1998; Todd et Hatcher, 1993). Un exemple est le cas de la perchaude dont des analyses mitochondriales ont révélé une dichotomie entre la répartition géographique des haplotypes du refuge mississippien et ceux du refuge atlantique (Todd et Hatcher, 1993). Les deux haplotypes étaient observés dans des régions distinctes suggérant que différentes routes de colonisation ont été utilisées et que des barrières géographiques auraient limité la dispersion des individus (Todd et Hatcher, 1993).

La présence de *C. neogaeus* possédant l'haplotype F semblerait être corrélé avec la persistance de *C. neogaeus* provenant du refuge mississippien dans ces bassins versants. Ceci pourrait être le résultat d'un sauvetage génétique ou d'un avantage démographique dû à la contribution de l'haplotype F bien que ces hypothèses demeurent à être testées. Effectivement, au cours de la glaciation du Pléistocène, les populations de *C. neogaeus* ont été isolées dans des refuges glaciaires distincts entre 80 000 et 10 000 ans avant la présente époque (Curry, 2007; Mandrak et Crossman, 1992). Ceci a alors entraîné une divergence ainsi qu'une différenciation génétique entre les populations (Bernatchez, 1997; Hewitt, 2000; Hewitt, 2004; Maggs *et al.*, 2008; Stewart *et al.*, 2010; Todd et Hatcher, 1993). Les populations de *C. neogaeus* provenant de refuges distincts vont donc présenter différentes adaptations à l'environnement. Suivant leur colonisation postglaciaire, les individus peuvent alors s'être retrouvés dans des environnements pour lesquels ils étaient moins bien adaptés

comparativement à d'autres. Leur déclin aurait alors entraîné des événements d'hybridation interspécifiques (Hubbs, 1955). Cependant, comme plusieurs événements d'hybridation *in situ* se sont produits dans le bassin versant CH, malgré la présence des deux haplotypes, l'avantage apporté par l'haplotype F a seulement retardé le déclin de *C. neogaeus*.

3.2 Événements d'hybridation *in situ*

Les individus hybrides échantillonnés dans cette étude se sont regroupés en 41 lignées distinctes. Un nombre aussi élevé de lignées est cohérent avec une étude précédente, en Estrie, où 36 lignées ont été détectées (Vergilino *et al.*, 2016). Le nombre moyen de mutations entre les génotypes est 24 fois plus grand que le nombre moyen au sein d'une même lignée. Ceci suggère que les lignées d'hybrides ont plutôt été produites par des événements d'hybridation distincts (Delmotte *et al.*, 2003). Cela exclut aussi la probabilité de clones dérivés d'un événement d'hybridation unique tel qu'observé chez *Poecilia formosa* et *Poeciliopsis monacha-occidentalis* (Lampert *et al.*, 2005; Quattro *et al.*, 1992).

3.2.1 Isolement reproductif

Les événements d'hybridation *in situ* dans le complexe *C. eos-neogaeus* semblent être rares dans les autres régions d'Amérique du Nord étudiées jusqu'à présent (Angers et Schlosser, 2007). En effet, la première évidence de lignées d'hybrides produites localement, durant l'Holocène, a été trouvée en Estrie (Vergilino *et al.*, 2016). Ceci suggère que l'isolement reproductif entre *C. eos* et *C. neogaeus* est efficace et que les deux espèces ne se reproduisent pas ensemble.

En effet, différents mécanismes d'isolement reproductif prézygotique (via des barrières temporelles et comportementales) ainsi que postzygotique préviennent l'hybridation entre les deux espèces. Tout d'abord, *C. eos* et *C. neogaeus* possèdent des périodes de frai différentes résultant ainsi en un isolement reproductif temporel (Das et Nelson, 1990). Ensuite, le choix de partenaire représente un isolement reproductif comportemental efficace. La coloration ventrale vive des mâles durant la

période de reproduction suggère l'existence d'un choix de partenaire chez les femelles (Mee et Otto, 2010). Celles-ci peuvent alors être en mesure de différencier les mâles de leur propre espèce des autres mâles et, par le fait même, éviter les événements d'hybridation interspécifiques. Un choix de partenaire est vraisemblablement fait également chez les mâles puisqu'il est présumé que la préférence des mâles pour des femelles conspécifiques joue un rôle important dans la coexistence entre les hybrides et les espèces parentales (Mee *et al.*, 2013; Mee et Otto, 2010). Dû à l'avantage démographique des hybrides, ceux-ci surpasseraient normalement leurs hôtes sexués, ce qui mènerait éventuellement à leur propre disparition en éliminant leur source de sperme. Par contre, afin de pallier à ce problème, il est proposé que les mâles favorisent les femelles de leur propre espèce (Mee *et al.*, 2013; Mee et Otto, 2010). Le succès de reproduction des femelles hybrides en est donc diminué et, par le fait même, les mâles vont ainsi éviter de se reproduire avec les femelles de l'autre espèce sexuée.

Finalement, un isolement postzygotique entrave aussi l'hybridation entre les deux espèces. Mee *et al.* (2013) ont noté un taux de viabilité plus faible des œufs issus de croisements hétérospécifiques par rapport à ceux issus de croisements conspécifiques. Leung et Angers (2018) proposent également que les individus asexués possèdent les mêmes coûts démographiques, similaires à la production de mâles, que les espèces sexuées. C'est-à-dire que, pour imiter les coûts de la reproduction sexuée, la moitié des individus asexués ne produiraient pas de progéniture (Leung et Angers, 2018). Ce qui préviendrait ainsi les hybrides de surpasser les espèces parentales.

Bref, une combinaison de tous ces mécanismes d'isolement prézygotique ainsi que postzygotique explique alors la rareté d'événements d'hybridation récents entre *C. eos* et *C. neogaeus*. Ceci confirme donc que la sympatrie des espèces parentales n'est pas suffisante pour provoquer leur hybridation. De plus, les résultats de la présente étude fournissent des preuves supplémentaires puisque deux sites (OU-3 et LO-2) où *C. eos* et *C. neogaeus* ont été trouvés en sympatrie, ont été échantillonnés pendant deux années consécutives et aucun hybride n'y a pourtant été détecté.

3.2.2 Hybridation lors de changements climatiques

3.2.2.1 Chevauchement reproductif

L'isolement reproductif temporel entre des espèces sympatriques se reproduisant à des périodes différentes peut être éliminé suite à des changements climatiques. Effectivement, la période de reproduction d'une espèce peut changer et chevaucher celle d'une autre espèce sympatrique qui va soit ne pas répondre ou répondre dans une direction différente à ces changements climatiques (Chunco, 2014). Par conséquent, le chevauchement des périodes de reproduction peut entraîner des événements d'hybridation entre les espèces (Chunco, 2014). Le phénomène a été observé chez deux espèces de frênes (*Fraxinus excelsior* et *Fraxinus angustifolia*) dont la période de floraison diffère (Gerard *et al.*, 2006). Bien que *F. excelsior* fleurit plus tard que *F. angustifolia*, des zones d'hybrides sont observées dans des régions où les variations climatiques modifient la période de fleuraison des deux espèces (Gerard *et al.*, 2006). Il est d'ailleurs prédit qu'avec le réchauffement climatique, le chevauchement reproductif des deux espèces va augmenter et permettre à *F. angustifolia* d'étendre sa répartition au détriment de *F. excelsior* (Gerard *et al.*, 2006).

En raison de l'isolement reproductif temporel entre *C. eos* et *C. neogaeus*, des changements climatiques résultant en un chevauchement de leur période de reproduction pourraient rendre l'hybridation entre les deux espèces possible. Effectivement, l'espèce maternelle *C. neogaeus* se reproduit très tôt au printemps, peu après la fonte de la couverture de glace (Stasiak et Cunningham, 2015). Quant à *C. eos*, l'espèce se reproduit plus tard, au printemps et durant l'été, lorsque la température de l'eau est plus chaude (Stasiak, 2006). Par contre, des changements climatiques peuvent provoquer une augmentation rapide de la température de l'eau au printemps (Hudon *et al.*, 2010; Yagouti *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2000). Ce qui devancerait ainsi la période de reproduction de *C. eos* et, par conséquent, entraînerait son chevauchement avec celle de *C. neogaeus* (Stasiak, 2006; Stasiak et Cunningham, 2015).

3.2.2.2 Principe de Hubbs

Cependant, bien que cette hypothèse soit valable, le chevauchement de la période de frai de *C. eos* et *C. neogaeus*, suite à des changements climatiques, n'explique pas à lui seul l'abondance des événements d'hybridation *in situ* en Estrie. En effet, l'isolement reproductif comportemental, mentionné plus haut, prévient leur hybridation. La rareté de *C. neogaeus* déclenche probablement l'hybridation entre les deux espèces, selon le principe de Hubbs (Hubbs, 1955), puisque *C. neogaeus* n'a pas été échantillonné dans la majorité des sites où des hybrides *in situ* ont été détectés (Vergilino *et al.*, 2016). Ce qui indique donc que l'espèce s'est hybridée avant de disparaître de la région.

3.2.3 Répartition géographique des lignées d'hybrides

Les lignées d'hybrides échantillonnées dans le cadre de la présente étude démontrent différentes répartitions géographiques indicatrices des événements d'hybridation les ayant engendrées. Dans les sites au sud, les lignées présentent une petite répartition géographique restreinte à un site ou à quelques sites rapprochés. De plus, leur répartition est limitée à un sous-bassin versant. Ceci indique que les événements d'hybridation se sont produits localement après la disparition des ponts pro-glaciaires temporaires entre les bassins versants. Ces lignées ont donc fort probablement été produites *in situ*, puisque leur répartition est similaire à ce qui a été observé en Estrie où aucune lignée *in situ* n'a été trouvée dans différents sous-bassins versants (Angers et Schlosser, 2007; Vergilino *et al.*, 2016). De plus, les tests d'assignation ont révélé une relation génétique étroite entre ces hybrides et les populations sympatriques de *C. eos*. En effet, la plupart des hybrides testés ont été assignés à leur population de *C. eos* respective. Ce qui confirme ainsi qu'ils ont bel et bien été engendrés *in situ*.

La présence de l'haplotype mitochondrial de *C. neogaeus* provenant du refuge atlantique chez quatre de ces lignées d'hybrides (F01 à F04) confirme également cette hypothèse. Effectivement, aucune autre lignée possédant l'haplotype F n'a été échantillonnée dans les autres sites. La contribution du refuge atlantique à la répartition

géographique des hybrides semble donc être limitée comme l'ont noté Angers et Schlosser (2007) ainsi que Mee et Taylor (2012). Ces quatre lignées ont alors probablement été produites au cours de l'Holocène à partir des populations de *C. neogaeus* du refuge atlantique ayant colonisé ces sites.

De plus, il est attendu que des lignées d'hybrides engendrées *in situ* au cours de l'Holocène présentent une faible diversité génétique en raison du peu de temps écoulé depuis les événements d'hybridation (Angers et Schlosser, 2007). C'est-à-dire qu'il va y avoir moins de divergence entre les individus d'une même lignée *in situ* qu'entre ceux de lignées produites au cours du Pléistocène. Ensuite, engendrées à partir de la même population d'espèces parentales ou possiblement à partir des mêmes parents, les lignées d'hybrides *in situ* d'une même population vont également posséder des génotypes consensus similaires comparativement à ceux de lignées du Pléistocène (Angers et Schlosser, 2007).

Cependant, le nombre moyen de pas de mutations calculé entre et au sein des lignées *in situ* n'est pas différent du nombre moyen calculé chez les lignées du Pléistocène. Indiquant alors que ces dernières ne possèdent pas davantage de diversité génétique que les lignées *in situ*. Par contre, le nombre moyen de pas de mutations a été calculé à partir d'un sous-échantillon d'individus de chacune des lignées échantillonnées. L'amplitude de la variation génétique chez les lignées engendrées durant la glaciation peut ainsi ne pas avoir été détectée. D'autre part, les lignées produites durant le Pléistocène sont établies depuis de nombreuses générations. Par conséquent, leurs populations comportent un nombre d'individus supérieur à celui des lignées *in situ*. Il faudrait ainsi corriger pour le nombre d'individus afin de pouvoir comparer le nombre de mutations moyen entre les lignées. Toutefois, bien qu'elles soient séparées par plusieurs pas de mutations (>55), les lignées d'hybrides *in situ* d'un même site diffèrent seulement à 2 ou 3 locus. Ceci pourrait donc tout de même être le résultat de lignées provenant du même événement d'hybridation, mais ayant hérité de chromosomes différents d'un parent donné.

En allant vers le nord, la plupart des hybrides échantillonnés appartiennent à un très petit nombre de lignées possédant une large répartition géographique. Une telle répartition, à travers plusieurs réseaux hydrographiques actuellement isolés, ne peut être expliquée que par des événements d'hybridation ayant eu lieu au cours du Pléistocène. En effet, lors de la colonisation postglaciaire, les lignées d'hybrides ont bénéficié des ponts pro-glaciaires temporaires entre les bassins versants. Ce patron est commun chez d'autres espèces d'hybrides unisexués (Cunha *et al.*, 2004; Janko *et al.*, 2005; Quattro *et al.*, 1992) et a été observé chez le complexe *Chrosomus eos-neogaeus* dans la région des Laurentides où la lignée B-01 est abondante dans des lacs situés dans plusieurs bassins versants distincts (Angers et Schlosser, 2007; Vergilino *et al.*, 2016).

3.3 Gradient latitudinal des lignées d'hybrides

3.3.1 Différents signaux temporels

Le relevé latitudinal effectué dans la présente étude couplé à l'étude précédente réalisée en Estrie (Vergilino *et al.*, 2016) a confirmé que la répartition des lignées d'hybrides est organisée en fonction de la latitude. Depuis les sites d'échantillonnage les plus au sud, la diversité des lignées d'hybrides augmente (Vergilino *et al.*, 2016) avant d'atteindre son maximum dans les sites situés dans le bassin versant CH. Cependant, en continuant d'aller vers le nord, la diversité diminue rapidement puisque les mêmes lignées sont détectées dans la majorité des sites.

Ce patron semble être le résultat de deux processus distincts. Premièrement, les événements d'hybridation *in situ* génèrent une grande diversité de lignées d'hybrides puisque chaque zygote représente une lignée distincte. Ce nombre peut être élevé, en particulier chez les organismes tels que les poissons qui peuvent produire des milliers d'œufs. Puis, au fil des générations, des processus aléatoires liés au tri des lignées ainsi qu'à la sélection diminuent ce nombre. Par conséquent, la diversité des lignées sur un site donné dépend principalement du temps écoulé depuis les événements d'hybridation. Comme moins de lignées sont observées au sud, cela suggère donc que les événements d'hybridation se sont produits il y a plus longtemps. Tandis que la

grande diversité de lignées d'hybrides dans la partie nord de SF et dans CH reflète des événements d'hybridation plus récents.

Deuxièmement, les hybrides présents dans les sites d'échantillonnage peuvent soit s'y être dispersés à partir des différents refuges glaciaires ou bien y avoir été engendrés sur place suite à des événements d'hybridation *in situ*. Cependant, ces deux scénarios peuvent être distingués via la diversité des lignées d'hybrides puisque la colonisation postglaciaire des hybrides devrait entraîner un faible nombre de lignées d'hybrides possédant une large répartition géographique (Angers et Schlosser, 2007). En effet, au cours du Pléistocène, les conditions environnementales sont soupçonnées d'avoir été aussi variables que celles des lacs et des étangs actuels (Angers et Schlosser, 2007). Les lignées produites au cours de cette période ont donc déjà subi les processus de sélection qui ont sélectionné les lignées généralistes capables de s'adapter à un large éventail d'habitats (Angers et Schlosser, 2007). Ainsi, une faible diversité de lignées d'hybrides dans un site peut être interprétée comme étant l'absence d'événements d'hybridation *in situ*.

Tout cela suggère différents signaux temporels quant à la démographie de *C. neogaeus*. Dans les bassins versants les plus au sud, tels que le bassin SF, *C. neogaeus* a décliné puis s'est hybridé avec *C. eos* avant de disparaître (Vergilino *et al.*, 2016). Au nord, dans le bassin CH, la grande diversité des lignées hybrides, associée à la présence de *C. neogaeus*, suggère que l'espèce est actuellement en déclin. Enfin, dans les bassins plus au nord, *C. neogaeus* est encore abondant et seuls de rares événements d'hybridation *in situ* ont été détectés.

3.4 Changements climatiques

3.4.1 Déclin récent de *Chrosomus neogaeus*

Un tel gradient latitudinal de la diversité des lignées d'hybrides suggère un effet environnemental à grande échelle. Les changements environnementaux ayant suivi la fin du Pléistocène peuvent avoir déclenché le déclin démographique de *C. neogaeus*, augmentant ainsi la probabilité d'hybridation interspécifique des femelles de *C.*

neogaeus selon le principe de Hubbs (Hubbs, 1955). Cependant, la très grande diversité de lignées d'hybrides dans le bassin versant CH (particulièrement dans le site CH-2) laisse croire que des changements climatiques plus récents pourraient également être en cause. En effet, la grande diversité de lignées d'hybrides dans CH-2 combinée à la présence de *C. neogaeus* suggère que l'espèce maternelle connaît actuellement un déclin démographique. Ceci coïncidant avec des événements d'hybridation *in situ* d'individus, possédant autant l'haplotype A que F, dans des régions caractérisées par une température moyenne plus élevée.

3.4.1.1 Triploïdes *Chrosomus eos-neogaeus* x *neogaeus*

La présence d'individus triploïdes ENN dans le site CH-2 représente un autre indice suggérant que *C. neogaeus* y soit présentement en déclin. Les hybrides *C. eos-neogaeus* requièrent le sperme d'une ou l'autre des espèces parentales pour se reproduire. À l'occasion, le génome du spermatozoïde est incorporé au génome de l'œuf diploïde et mène à la formation d'hybrides triploïdes (Goddard *et al.*, 1989, Leung et Angers 2017). Mis à part dans le site CH-2, seulement des triploïdes EEN ont été trouvés. Ceci étant consistant avec ce qui a été observé dans des études précédentes (Angers and Schlosser, 2007; Vergilino *et al.*, 2016). Les hybrides semblent donc utiliser le sperme de *C. eos* et non celui de *C. neogaeus* pour déclencher le développement de leurs œufs.

L'abondance d'hybrides triploïdes EEN, dans les régions échantillonnées jusqu'à présent (Angers and Schlosser, 2007; Vergilino *et al.*, 2016), soulève alors l'hypothèse que la préférence des mâles pour des femelles conspécifiques soit plus forte chez *C. neogaeus* que chez *C. eos*. La présence de triploïdes ENN dans le site CH-2 supporte donc l'idée que *C. neogaeus* est présentement en déclin dans ce site. Effectivement, comme les individus conspécifiques se font plus rares, les mâles *C. neogaeus* sont ainsi plus enclins à se reproduire avec les femelles hybrides qui sont plus abondantes.

3.4.2 Situation des écosystèmes aquatiques du Québec

Dans le sud du Québec, une tendance à la hausse de la température et du taux de précipitations moyennes, associé à des variations de température, a été observée au cours des dernières décennies (Yagouti *et al.*, 2008, Zhang *et al.*, 2000). La température de l'eau des lacs et des rivières est principalement modulée par les variations saisonnières de la température de l'air (Hudon *et al.*, 2010). Par contre, simplement des changements du régime d'écoulement des eaux affectent grandement la température des petits cours d'eau (Hudon *et al.*, 2010).

Chez de nombreuses espèces de poissons d'eau douce, des changements de température et des niveaux de l'eau affectent les taux de reproduction et l'état des frayères. La physicochimie de l'eau peut même atteindre des niveaux létaux pour certaines espèces. L'esturgeon jaune (*Acepenser fulvescens*) ainsi que le saumon atlantique (*Salmo salar*) ont d'ailleurs vu leurs populations décliner en raison du réchauffement climatique (Bourduas *et al.*, 2017, Daigle *et al.*, 2015). Un autre exemple d'espèce affectée est la perchaude (*Perca flavescens*). Farmer *et al.* (2015) ont noté que les hivers plus chauds et plus courts réduisent le succès de reproduction de l'espèce. Les femelles fraient ainsi à des températures plus élevées et, par conséquent, produisent des œufs plus petits qui possèdent un plus faible taux d'éclosion et engendrent des larves plus petites comparativement à des femelles exposées à des hivers plus longs (Farmer *et al.*, 2015). En raison du réchauffement climatique, il est alors attendu que plusieurs espèces de poissons d'eau douce subissent un déplacement vers le nord de leur répartition géographique (Chu *et al.*, 2005, Sharma *et al.*, 2007).

3.4.3 Déplacement vers le nord de la répartition de *C. neogaeus*

Le changement spécifique des conditions environnementales responsables du déclin de *C. neogaeus* dans le sud du Québec reste à être élucidé. Cependant, le réchauffement climatique peut engendrer diverses conséquences sur l'espèce. Tout d'abord, cela peut entraîner la migration d'espèces compétitrices ou de prédateurs dans l'aire de répartition de *C. neogaeus*. L'achigan à petite bouche (*Micropterus dolomieu*)

en est un exemple. Cette espèce de poisson d'eau douce est associée à des eaux chaudes et, d'ici les prochaines décennies, il est attendu qu'elle étale son aire de répartition vers le nord en raison du réchauffement climatique (Alofs, 2014; Chu *et al.*, 2005). L'expansion de *M. dolomieu* dans de nouveaux bassins versants risque d'entraîner des répercussions sur les communautés de poissons y étant déjà présents, particulièrement chez les populations de poissons-proies tels que les Cyprinidés (Alofs, 2014; Chu *et al.*, 2005). Jackson et Mandrack (2002) ont d'ailleurs estimé une perte de 25 000 populations de *C. neogaeus*, de *C. eos*, de ménés à tête de boule (*Pimephales promelas*) ainsi que de ménés perlés (*Semotilus margarita*) suivant l'expansion de l'achigan à petite bouche.

Le réchauffement peut également entraîner des changements au niveau de l'alimentation de *C. neogaeus*. Les crustacés planctoniques ainsi que les macroinvertébrés benthiques représentent la principale source de nourriture de l'espèce (Stasiak et Cunningham, 2015). Les différents facteurs abiotiques d'un cours d'eau influencent les communautés d'invertébrés y étant retrouvés. Par conséquent, une augmentation de la température engendre d'importants changements dans la composition des espèces d'invertébrés des milieux aquatiques d'eau douce (Burgmer *et al.*, 2007; Hogg et Williams, 1996; Woodward *et al.*, 2010). Suite au réchauffement climatique, il est ainsi attendu d'observer une modification de la composition d'espèces dont *C. neogaeus* se nourrit. Ceci peut alors provoquer le déclin de *C. neogaeus* advenant une diminution de la disponibilité de nourriture.

Cependant, l'introduction d'espèces compétitrices ou de prédateurs ainsi qu'une modification des sources de nourriture n'affecterait pas uniquement *C. neogaeus*. Comme *C. eos* occupe une niche écologique similaire à celle de *C. neogaeus* et les hybrides occupent une niche intermédiaire entre les deux espèces (Stasiak, 2006; Stasiak et Cunningham, 2015), il serait attendu d'observer également un déclin de leurs populations. Par contre, seul *C. neogaeus* a disparu de la région de l'Estrie (Vergilino *et al.*, 2016). Ceci soulève donc l'hypothèse que la température joue un rôle important en ce qui a attiré au déclin de l'espèce. Effectivement, alors que le type sauvage de *C.*

eos se retrouve principalement dans la partie sud de la zone de répartition du complexe *C. eos-neogaeus* en Amérique du Nord, la répartition plus nordique de *C. neogaeus* suggère que cette espèce est mieux adaptée aux environnements plus froids (Scott et Crossman, 1973). Ceci est cohérent avec une comparaison précédente qui a révélé une activité du complexe IV de la chaîne respiratoire mitochondriale plus élevée chez *C. neogaeus* que chez *C. eos* (Deremiens *et al.*, 2015).

Le réchauffement climatique peut alors expliquer l'extinction de *C. neogaeus* au sud du Québec. Ceci résultant en un déplacement de la répartition géographique de l'espèce vers le nord, le phénomène ayant été signalé chez plusieurs espèces y compris les poissons (Alofs, 2014, Chu *et al.*, 2005, Comte *et al.*, 2013). De plus, comme l'espèce semble en déclin dans les sites du bassin versant CH, il est attendu que la répartition de *C. neogaeus* se déplace davantage vers le nord d'ici les prochaines décennies.

4 Conclusion générale

Sans comparatif avec lequel mesurer les changements climatiques, il est alors difficile d'évaluer les effets de ceux-ci sur les espèces. Il est donc nécessaire de comprendre les effets des changements climatiques passés sur les espèces et comment celles-ci ont répondu à ces changements afin de pouvoir émettre des prédictions quant au déplacement de leur répartition géographique. D'ailleurs, le déplacement actuel de la répartition géographique des espèces est principalement mesuré à partir des données récoltées depuis les dernières décennies. Cependant, lorsque *C. neogaeus* subit un déclin démographique, de multiples événements d'hybridation *in situ* peuvent en résulter. Les hybrides gynogènes *Chrosomus eos-neogaeus*, qui sont ainsi engendrés, conservent de façon intacte la diversité génétique de l'espèce parentale au moment de l'hybridation. Cette signature génétique permet alors de réaliser un suivi temporel à long terme de *C. neogaeus* à partir de populations actuelles. L'histoire de son déclin peut ainsi être retracée.

La répartition géographique des haplotypes mitochondriaux de *C. neogaeus*, provenant de refuges glaciaires distincts, démontre différentes histoires de colonisation postglaciaire. Effectivement, il existe une corrélation entre les bassins versants et l'origine glaciaire des individus les ayant colonisés. Comme les populations de différents refuges ne possèdent pas les mêmes adaptations à l'environnement, certaines d'entre-elles n'ont alors pas été en mesure de s'adapter aux changements climatiques postglaciaires.

Toutefois, la diversité des lignées d'hybrides varie en fonction d'un gradient latitudinal. Ce gradient peut être interprété comme étant la conséquence du déplacement vers le nord de la répartition géographique de *C. neogaeus*. Les événements d'hybridation *in situ* représentent donc d'importants bioindicateurs de ce déplacement qui coïncide avec le déplacement de nombreuses autres espèces animales et végétales à la suite de changements climatiques. Ce qui constitue donc une preuve supplémentaire des changements environnementaux à grande échelle,

dans les écosystèmes aquatiques d'eau douce, étant survenus depuis la fin de la glaciation.

Bibliographie

- Alofs, K. M., Jackson, D. A., & Lester, N. P. (2014). Ontario freshwater fishes demonstrate differing range-boundary shifts in a warming climate. *Diversity and Distributions*, 20(2), 123-136.
- Anderson, E., & Hubricht, L. (1938). Hybridization in *Tradescantia*. III. The evidence for introgressive hybridization. *American Journal of Botany*, 396-402.
- Andren, H. (1994). Effects of habitat fragmentation on birds and mammals in landscapes with different proportions of suitable habitat: a review. *Oikos*, 355-366.
- Angers, B., & Schlosser, I. J. (2007). The origin of *Phoxinus eos-neogaeus* unisexual hybrids. *Molecular Ecology*, 16(21), 4562-4571.
- Angers, B., Leung, C., Vétill, R., Deremiens, L., Vergilino, R. (2018). The effects of allospecific mitochondrial genome on the fitness of northern redbelly dace (*Chrosomus eos*). *Ecology and Evolution*, 00,1–11.
- Bailey, R. M., & Smith, G. R. (1981). Origin and geography of the fish fauna of the Laurentian Great Lakes basin. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38(12), 1539-1561.
- Behrensmeyer, A. K., Western, D., & Boaz, D. E. D. (1979). New perspectives in vertebrate paleoecology from a recent bone assemblage. *Paleobiology*, 5(1), 12-21.
- Benfey, T. J. (1999). The physiology and behavior of triploid fishes. *Reviews in Fisheries Science*, 7(1), 39-67.
- Bernatchez, L. (1997). Mitochondrial DNA analysis confirms the existence of two glacial races of rainbow smelt *Osmerus mordax* and their reproductive isolation in the St Lawrence River estuary (Quebec, Canada). *Molecular Ecology*, 6(1), 73-83.

- Bernatchez, L., & Wilson, C. C. (1998). Comparative phylogeography of Nearctic and Palearctic fishes. *Molecular Ecology*, 7(4), 431-452.
- 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.
- Bourduas, V., Siron, R. & Blondlot, A. (2017). État des lieux des pêches et de l'aquaculture au Québec en lien avec les changements climatiques. *Ouranos*. 84.
- Burgmer, T., Hillebrand, H., & Pfenninger, M. (2007). Effects of climate-driven temperature changes on the diversity of freshwater macroinvertebrates. *Oecologia*, 151(1), 93-103.
- Burnham, K. P., & Anderson, D. R. (2003). *Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach*. Springer Science & Business Media.
- Burrows, M. T., Schoeman, D. S., Richardson, A. J., Molinos, J. G., Hoffmann, A., Buckley, L. B., Moore, P. J., Brown, C. J., Bruno, J. F., Duarte, A. M., Halpern, B. S., Hoegh-Guldberg, O., Kappel, C. V., Kiessling, W., O'Connor, M. I., Pandolfi, J. M., Parmesan, C., Sydeman, W. J., Ferrier, S., Williams, K. J. & Poloczanska, E. S. (2014). Geographical limits to species-range shifts are suggested by climate velocity. *Nature*, 507(7493), 492.
- Carrión, J. S., Parra, I., Navarro, C., & Munuera, M. (2000). Past distribution and ecology of the cork oak (*Quercus suber*) in the Iberian Peninsula: a pollen-analytical approach. *Diversity and Distributions*, 6(1), 29-44.
- Chu, C., Mandrak, N. E., & Minns, C. K. (2005). Potential impacts of climate change on the distributions of several common and rare freshwater fishes in Canada. *Diversity and Distributions*, 11(4), 299-310.
- Chunco, A. J. (2014). Hybridization in a warmer world. *Ecology and Evolution*, 4(10), 2019-2031.

- Comte, L., Buisson, L., Daufresne, M., & Grenouillet, G. (2013). Climate-induced changes in the distribution of freshwater fish: observed and predicted trends. *Freshwater Biology*, 58(4), 625-639.
- Cornuet, J. M., Piry, S., Luikart, G., Estoup, A., & Solignac, M. (1999). New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics*, 153(4), 1989-2000.
- Cunha, C., Coelho, M. M., Carmona, J. A., & Doadrio, I. (2004). Phylogeographical insights into the origins of the *Squalius alburnoides* complex via multiple hybridization events. *Molecular Ecology*, 13(9), 2807-2817.
- Curry, R. A. (2007). Late glacial impacts on dispersal and colonization of Atlantic Canada and Maine by freshwater fishes. *Quaternary Research*, 67(2), 225-233.
- Daigle, A., Jeong, D. I., & Lapointe, M. F. (2015). Climate change and resilience of tributary thermal refugia for salmonids in eastern Canadian rivers. *Hydrological Sciences Journal*, 60(6), 1044-1063.
- Das, M. K., & Nelson, J. S. (1990). Spawning time and fecundity of northern redbelly dace, *Phoxinus eos*, finescale dace, *Phoxinus neogaeus*, and their hybrids in Upper Pierre Grey Lake, Alberta. *Canadian Field-Naturalist Ottawa ON*, 104(3), 409-413.
- Dawley, R. M. (1989). An introduction to unisexual vertebrates. In: *Evolution and Ecology of Unisexual Vertebrates* (eds Dawley RM, Bogart JP). Bull. 466, pp. 1–18. New York State Museum, New York.
- Dawley, R. M., & Goddard, K. A. (1988). Diploid-triploid mosaics among unisexual hybrids of the minnows *Phoxinus eos* and *Phoxinus neogaeus*. *Evolution*, 42(4), 649-659.

- 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.
- De Meeûs, T., Prugnolle, F., & Agnew, P. (2007). Asexual reproduction: genetics and evolutionary aspects. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(11), 1355-1372.
- Delmotte, F., Sabater-Muñoz, B., Prunier-Leterme, N., Latorre, A., Sunnucks, P., Rispe, C., & Simon, J. C. (2003). Phylogenetic evidence for hybrid origins of asexual lineages in an aphid species. *Evolution*, 57(6), 1291-1303.
- Deremiens, L., Schwartz, L., Angers, A., Glémet, H., & Angers, B. (2015). Interactions between nuclear genes and a foreign mitochondrial genome in the redbelly dace *Chrosomus eos*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 189, 80-86.
- Dowling, T. E., Smith, G. R., & Brown, W. M. (1989). Reproductive isolation and introgression between *Notropis cornutus* and *Notropis chrysocephalus* (family Cyprinidae): comparison of morphology, allozymes, and mitochondrial DNA. *Evolution*, 43(3), 620-634.
- Dunteman, G. H., & Ho, M. H. R. (2005). *An introduction to generalized linear models* (Vol. 145). Sage Publications.
- Dyke, A., & Prest, V. (1987). Late Wisconsinan and Holocene history of the Laurentide ice sheet. *Géographie Physique et Quaternaire*, 41(2), 237-263.
- Elinson, R. P., Bogart, J. P., Licht, L. E., & Lowcock, L. A. (1992). Gynogenetic mechanisms in polyploid hybrid salamanders. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 264(1), 93-99.
- Farmer, T. M., Marschall, E. A., Dabrowski, K., & Ludsin, S. A. (2015). Short winters threaten temperate fish populations. *Nature Communications*, 6, 7724.

- Fox, J., Bates, D., Firth, D., Friendly, M., Gorjanc, G., Graves, S., Heiberger, R., Monette, G., Nilsson, H., Ripley, B., Weisberg, S., Zeleis, A. & Suggests, M. A. S. (2007). The car package. *R Foundation for Statistical Computing*.
- Gérard, P. R., Klein, E. K., Austerlitz, F., Fernández-Manjarrés, J. F., & Frascaria-Lacoste, N. (2006). Assortative mating and differential male mating success in an ash hybrid zone population. *BMC Evolutionary Biology*, 6(1), 96.
- Glemet, H., Blier, P., & Bernatchez, L. (1998). Geographical extent of Arctic char (*Salvelinus alpinus*) mtDNA introgression in brook char populations (*S. fontinalis*) from eastern Quebec, Canada. *Molecular Ecology*, 7(12), 1655-1662.
- 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*, 44(4), 1052-1065.
- Goddard, K. A., & Schultz, R. J. (1993). Aclonal reproduction by polyploid members of the clonal hybrid species *Phoxinus eos-neogaeus* (Cyprinidae). *Copeia*, 650-660.
- Goddard, K. A., Dawley, R. M., & Dowling, T. E. (1989). Origin and genetic relationships of diploid, triploid, and diploid-triploid mosaic biotypes in the *Phoxinus eos-neogaeus* unisexual complex. *Evolution and Ecology of Unisexual Vertebrates*, Bulletin, 466, 268-280.
- Goddard, K. A., Megwinoff, O., Wessner, L. L., & Giaimo, F. (1998). Confirmation of gynogenesis in *Phoxinus eos-neogaeus* (Pisces: Cyprinidae). *Journal of Heredity*, 89(2), 151-157.
- Grant, P. R., & Grant, B. R. (1997). Hybridization, sexual imprinting, and mate choice. *American Naturalist*, 149(1), 1-28.
- Grismer, J. L., & Grismer, L. L. (2010). Who's your mommy? Identifying maternal ancestors of asexual species of *Leioplepis* Cuvier, 1829 and the description of a

- new endemic species of asexual *Leiolepis* Cuvier, 1829 from Southern Vietnam. *Zootaxa*, 2433, 47-61.
- Gurevitch, J., & Padilla, D. K. (2004). Are invasive species a major cause of extinctions?. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(9), 470-474.
- Hansen, J. E., & Sato, M. (2012). Paleoclimate implications for human-made climate change. In *Climate Change* (pp. 21-47). Springer, Vienna.
- Hewitt, G. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405(6789), 907-913.
- Hewitt, G. M. (2004). Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 359(1442), 183-195.
- Hill, M. F., & Caswell, H. (1999). Habitat fragmentation and extinction thresholds on fractal landscapes. *Ecology Letters*, 2(2), 121-127.
- Hogg, I. D., & Williams, D. D. (1996). Response of stream invertebrates to a global-warming thermal regime: An ecosystem-level manipulation. *Ecology*, 77(2), 395-407.
- Holsbeek, G., & Jooris, R. (2010). Potential impact of genome exclusion by alien species in the hybridogenetic water frogs (*Pelophylax esculentus* complex). *Biological Invasions*, 12(1), 1.
- Hubbs, C. L. (1955). Hybridization between fish species in nature. *Systematic Zoology*, 4(1), 1-20.
- Hudon, C., Armellin, A., Gagnon, P., & Patoine, A. (2010). Variations in water temperatures and levels in the St. Lawrence River (Québec, Canada) and potential implications for three common fish species. *Hydrobiologia*, 647(1), 145-161.

- Jackson, D. A., & Mandrak, N. E. (2002). Changing fish biodiversity: predicting the loss of cyprinid biodiversity due to global climate change. In *American Fisheries Society Symposium* (pp. 89-98). American Fisheries Society.
- Janko, K., Culling, M. A., Rab, P., & Kotlik, P. (2005). Ice age cloning—comparison of the Quaternary evolutionary histories of sexual and clonal forms of spiny loaches (Cobitis; Teleostei) using the analysis of mitochondrial DNA variation. *Molecular Ecology*, 14(10), 2991-3004.
- Jansson, G., Thulin, C. G., & Pehrson, Å. (2007). Factors related to the occurrence of hybrids between brown hares *Lepus europaeus* and mountain hares *L. timidus* in Sweden. *Ecography*, 30(5), 709-715.
- Lampert, K. P., Lamatsch, D. K., Epplen, J. T., & Schartl, M. (2005). Evidence for a monophyletic origin of triploid clones of the Amazon molly, *Poecilia formosa*. *Evolution*, 59(4), 881-889.
- Lampert, K. P., Lamatsch, D. K., Fischer, P., Epplen, J. T., Nanda, I., Schmid, M., & Schartl, M. (2007). Automictic reproduction in interspecific hybrids of poeciliid fish. *Current Biology*, 17(22), 1948-1953.
- Leung, C., & Angers, B. (2018). Imitating the cost of males: A hypothesis for coexistence of all-female sperm-dependent species and their sexual host. *Ecology and Evolution*, 8(1), 266-272.
- Lotze, H. K., & Worm, B. (2009). Historical baselines for large marine animals. *Trends in Ecology & Evolution*, 24(5), 254-262.
- Maggs, C. A., Castilho, R., Foltz, D., Henzler, C., Jolly, M. T., Kelly, J., ... & Viard, F. (2008). Evaluating signatures of glacial refugia for North Atlantic benthic marine taxa. *Ecology*, 89(sp11), S108-S122.
- Mandrak, N. E., & Crossman, E. J. (1992). Postglacial dispersal of freshwater fishes into Ontario. *Canadian Journal of Zoology*, 70(11), 2247-2259.

- McFadden, D. (1973). Conditional logit analysis of qualitative choice behavior.
- McFadden, D. (1977). *Quantitative methods for analyzing travel behavior of individuals: some recent developments*. Institute of Transportation Studies, University of California.
- Mee, J. A., & Otto, S. P. (2010). Variation in the strength of male mate choice allows long-term coexistence of sperm-dependant asexuals and their sexual hosts. *Evolution*, 64(10), 2808-2819.
- Mee, J. A., & Taylor, E. B. (2012). The cybrid invasion: widespread postglacial dispersal by Phoxinus (Pisces: Cyprinidae) cytoplasmic hybrids. *Canadian Journal of Zoology*, 90(5), 577-584.
- Mee, J. A., Chan, C., & Taylor, E. B. (2013). Coexistence of sperm-dependent asexuals and their sexual hosts: the role of differences in fitness-related traits. *Environmental Biology of Fishes*, 96(9), 1111-1121.
- Ministry of Sustainable Development, Environment and the Fight Against Climate Change (MSDEFACC). (2018). Retrieved from http://climate.weather.gc.ca/climate_normals/index_e.html
- Nanda, I. M. W. I. J. M., Scharl, M., Feichtinger, W., Schlupp, I., Parzefall, J., & Schmid, M. (1995). Chromosomal evidence for laboratory synthesis of a triploid hybrid between the gynogenetic teleost *Poecilia formosa* and its host species. *Journal of Fish Biology*, 47(4), 619-623.
- Neaves, W. B., & Baumann, P. (2011). Unisexual reproduction among vertebrates. *Trends in Genetics*, 27(3), 81-88.
- Nelder, J. A., & Baker, R. J. (1972). *Generalized linear models*. John Wiley & Sons, Inc..
- New, J. G. (1962). Hybridization between two cyprinids, *Chrosomus eos* and *Chrosomus neogaeus*. *Copeia*, 147-152.

- O'Brien, R. M. (2007). A caution regarding rules of thumb for variance inflation factors. *Quality & Quantity*, 41(5), 673-690.
- Ohta, T., & Kimura, M. (1973). A model of mutation appropriate to estimate the number of electrophoretically detectable alleles in a finite population. *Genetics Research*, 22(2), 201-204.
- Oksanen, J., Kindt, R., Legendre, P., O'Hara, B., Simpson, G. L., Solymos, P., Henry, M., Stevens, H., Wagner, H. & Suggests, M. A. S. S. (2008). The vegan package. *Community Ecology Package*, 10.
- Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, I., & Strobeck, C. (1995). Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology*, 4(3), 347-354.
- Papalexiou, S. M., AghaKouchak, A., Trenberth, K. E., & Foufoula-Georgiou, E. (2018). Global, Regional, and Megacity Trends in the Highest Temperature of the Year: Diagnostics and Evidence for Accelerating Trends. *Earth's Future*, 6(1), 71-79.
- Parent, M., & Occhietti, S. (1999). Late Wisconsinan deglaciation and glacial lake development in the Appalachians of southeastern Québec. *Géographie Physique et Quaternaire*, 53(1), 117-135.
- Piry, S., Alapetite, A., Cornuet, J. M., Paetkau, D., Baudouin, L., & Estoup, A. (2004). GENECLASS2: a software for genetic assignment and first-generation migrant detection. *Journal of Heredity*, 95(6), 536-539.
- Quattro, J. M., Avise, J. C., & Vrijenhoek, R. C. (1991). Molecular evidence for multiple origins of hybridogenetic fish clones (Poeciliidae: Poeciliopsis). *Genetics*, 127(2), 391-398.
- Quattro, J. M., Avise, J. C., & Vrijenhoek, R. C. (1992). An ancient clonal lineage in the fish genus *Poeciliopsis* (Atheriniformes: Poeciliidae). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(1), 348-352.

- Randler, C. (2002). Avian hybridization, mixed pairing and female choice. *Animal Behaviour*, 63(1), 103-119.
- Raup, D. M. (1994). The role of extinction in evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(15), 6758-6763.
- Rhymer, J. M., & Simberloff, D. (1996). Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27(1), 83-109.
- Scott, W. B. & Crossman, E. J. (1973). Freshwater fishes of Canada. *Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada*, 184, 1-966.
- Sharma, S., Jackson, D. A., Minns, C. K., & Shuter, B. J. (2007). Will northern fish populations be in hot water because of climate change?. *Global Change Biology*, 13(10), 2052-2064.
- Sing, T., Sander, O., Beerenwinkel, N., & Lengauer, T. (2005). ROCr: visualizing classifier performance in R. *Bioinformatics*, 21(20), 3940-3941.
- Skalski, G. T., & Grose, M. J. (2006). Characterization of microsatellite loci in the creek chub (*Semotilus atromaculatus*). *Molecular Ecology Resources*, 6(4), 1240-1242.
- Smith, G. R. (1992). Introgression in fishes: significance for paleontology, cladistics, and evolutionary rates. *Systematic Biology*, 41(1), 41-57.
- Smith, J. M., & Maynard-Smith, J. (1978). The evolution of sex. Cambridge: Cambridge University Press.
- Sorte, C. J., Williams, S. L., & Carlton, J. T. (2010). Marine range shifts and species introductions: comparative spread rates and community impacts. *Global Ecology and Biogeography*, 19(3), 303-316.
- Stasiak, R. H. (2006). Northern redbelly dace (*Phoxinus eos*): a technical conservation assessment. *USDA Forest Service, Rocky Mountain Region*.

- Stasiak, R. H., & Cunningham, G. R. (2015). Finescale dace (*Phoxinus neogaeus*): A Technical Conservation Assessment.[Online], USDA Forest Service, Rocky Mountain Region.
- Stewart, J. R., Lister, A. M., Barnes, I., & Dalén, L. (2010). Refugia revisited: individualistic responses of species in space and time. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 277(1682), 661-671.
- Templeton, A. R., Shaw, K., Routman, E., & Davis, S. K. (1990). The genetic consequences of habitat fragmentation. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 13-27.
- Thomas, C. D., Cameron, A., Green, R. E., Bakkenes, M., Beaumont, L. J., Collingham, Y. C., Erasmus, B. F. N., Ferreira de Siqueira, M., Grainger, A., Hannah, L., Hughes, L., Huntley, B., Jaarsveld, A. S., Midgley, G. F., Miles, L., Ortega-Huerta, M. A., Peterson, A. T., Phillips, O. L. & Williams, S. E. (2004). Extinction risk from climate change. *Nature*, 427(6970), 145-148.
- Todd, T. N., & Hatcher, C. O. (1993). Genetic variability and glacial origins of yellow perch (*Perca flavescens*) in North America. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50(9), 1828-1834.
- 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*, 16(1), 183.
- Vrijenhoek, R. C. (1989). Genetic and ecological constraints on the origins and establishment of unisexual vertebrates. *Evolution and ecology of unisexual vertebrates*, 466, 24-31.
- Wilcox, B. A., & Murphy, D. D. (1985). Conservation strategy: the effects of fragmentation on extinction. *The American Naturalist*, 125(6), 879-887.

- Woodward, G., Perkins, D. M., & Brown, L. E. (2010). Climate change and freshwater ecosystems: impacts across multiple levels of organization. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1549), 2093-2106.
- Yagouti, A., Boulet, G., Vincent, L., Vescovi, L., & Mekis, E. (2008). Observed changes in daily temperature and precipitation indices for southern Québec, 1960–2005. *Atmosphere-Ocean*, 46(2), 243-256.
- Young, A., Boyle, T., & Brown, T. (1996). The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology & Evolution*, 11(10), 413-418.
- Zhang, X., Vincent, L. A., Hogg, W. D., & Niitsoo, A. (2000). Temperature and precipitation trends in Canada during the 20th century. *Atmosphere-Ocean*, 38(3), 395-429.
- Zhou, L., Wang, Y., & Gui, J. F. (2000). Genetic evidence for gonochoristic reproduction in gynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) as revealed by RAPD assays. *Journal of Molecular Evolution*, 51(5), 498-506.