

SÉBASTIEN MORASSE

**STRATÉGIE DE REPRODUCTION CONDITIONNELLE CHEZ LE SAUMON DE
L'ATLANTIQUE : IMPACT SUR LES CAPACITÉS MÉTABOLIQUES ET LE
DÉVELOPPEMENT MUSCULAIRE DE LA PROGÉNITURE**

Mémoire présenté

à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval
dans le cadre du programme de maîtrise en biologie
pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)

FACULTÉ DES SCIENCES ET DE GÉNIE
UNIVERSITÉ LAVAL
QUÉBEC

Mai 2006

RÉSUMÉ

Les alevins de saumons Atlantique (*Salmo salar* L.) mâles anadromes ont démontré un développement musculaire plus avancé et des capacités métaboliques supérieures, mais une activité de nage volontaire inférieure aux alevins issus de tacons matures. Les mâles utilisent une stratégie conditionnelle et emploient, soit une tactique de reproduction « combattante » avec une maturation sexuelle en milieu marin, soit une tactique « furtive » avec une maturation entièrement dulcicole (tacons matures). Les alevins vésiculés issus de pères anadromes ont démontré des activités enzymatiques indiquant des capacités aérobie (CCO, CS) et anaérobie (LDH) supérieures. Le profil enzymatique des rejetons de pères anadromes suggérait également une capacité plus grande à excréter l'azote (GDH) et un développement musculaire (CK, LDH, CS et CCO) plus avancé que les rejetons des tacons matures. À l'éclosion, les aires transversales totales des muscles rouge et blanc furent supérieures chez les rejetons issus de pères anadromes, probablement à cause d'un plus grand nombre de fibres de grand diamètre. À l'atteinte de la masse humide maximale (MHM), les rejetons de tacons matures démontrèrent une activité de nage volontaire (% de temps passé en activité) et donc une dépense énergétique, plus intense. Nous suggérons que les capacités métaboliques et le développement musculaire légèrement inférieurs chez les alevins issus de tacons matures, sans affecter la croissance de façon drastique, pourraient être du à une stratégie énergétique différente pendant la période de résorption du vitellus. Une activité de nage augmentée chez les alevins de tacons matures pourrait favoriser la prise alimentaire suite à la résorption du vitellus.

ABSTRACT

Offspring fathered by anadromous male Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) showed higher muscular development and metabolic capacities but lower voluntary swimming activity than those fathered by mature male parr. Males follow a conditional strategy and either become "combatants" that undertake a seaward migration and spend a minimum of one year at sea, or "sneakers" that remain in freshwater and mature as parr. At hatch and at maximal attainable wet weight (MAWW), enzymatic activities showed higher aerobic (CCO and CS) and anaerobic (LDH) capacities in offspring fathered by anadromous males. Enzymatic profiles of juveniles from anadromous fathers also suggested greater nitrogen excretion capacity (GDH) and increased muscular development (CK, LDH, CS and CCO) than those from mature parrs. At MAWW, juveniles fathered by mature parr showed a greater voluntary swimming activity (% of time spent swimming) and consequently, higher energy expenditure. For juveniles fathered by anadromous males, total cross sectionnal area of white and red muscle were higher at hatch, which was probably due to a greater number of large diameter fibers. We suggest that the slightly lower metabolic capacities and muscular development of alevins fathered by mature parr, without drastically affecting growth, could be explained by a different use of energy during the period of dependence upon endogenous feeding. Greater swimming activity of offspring of mature male parr could favor their feeding after the resorption of the vitellus.

AVANT-PROPOS

Je tiens avant toute chose, de façon très ressentie, à remercier ma directrice Helga Guderley pour le soutien sans faille dont elle a fait preuve à mon égard. Dans cette épreuve difficile pour moi, elle a su rester cette figure de proue rassurante, professionnelle et humaine en toutes circonstances. Je lui dois sans conteste une grande part de mon développement professionnel en tant que biologiste. Mon petit passage au sein du groupe d'étudiantes et d'étudiants d'Helga fut mémorable. Grand merci également à mon codirecteur Julian Dodson qui m'a accueilli moi et mes idées et a su diriger celles-ci vers l'accomplissement de ce travail. Il a eu ce don et cette grande humilité à chacune de nos rencontres, de souligner tout particulièrement les points forts de mes travaux. À vous deux, merci de m'avoir permis de grandir dans ce projet scientifique. J'aimerais également remercier d'autres membres du corps professoral de l'Université Laval pour m'avoir fourni de précieux commentaires lors de ma présentation de projet de maîtrise. Ces avis et ces pistes de questionnement ont véritablement terminé de forger ce travail en sa forme finale. Je tiens ici à souligner la contribution de Louis Bernatchez, de Jacques Larochelle et de Denis Joannis.

La réalisation expérimentale de ma maîtrise a été rendue possible grâce à la collaboration d'un grand nombre de personnes auxquelles ces quelques mots de remerciement sont tout spécialement dédiés. La première partie de ce projet s'est déroulée au Laboratoire des Sciences Aquatiques de l'Université Laval (LARSA) où j'ai bénéficié grandement de l'expertise de Serges Higgins et de son équipe de techniciens en aquaculture. J'ai ensuite pu bénéficier de la précieuse collaboration de Julie Turgeon et son équipe chaleureuse qui m'ont ouvert toutes grandes les portes de leur laboratoire. Merci à Reinhard Pienitz,

Warwick Vincent et Denis Joanisse ainsi qu'au personnel de leurs laboratoires respectifs pour le prêt de matériel de microscopie. Au sujet de la microscopie, j'ai également grandement apprécié le travail minutieux de Richard Janvier et de son équipe. Concernant le travail d'échantillonnage, j'ai eu la chance de bénéficier de la générosité de Manon Tanguay et de Catherine Martineau, techniciennes en T.I.R.B. (cégep de Sainte-Foy) qui ont volontairement et bénévolement donné de leur temps. Un merci tout spécial à Sara Mclean pour m'avoir formé définitivement au travail de laboratoire avec les capricieuses enzymes et aux autres amies et amis du laboratoire dans lequel j'ai œuvré. Vous êtes vraiment un groupe hyper sympathique et je vous souhaite tous une carrière à la hauteur de vos nombreux talents.

Bien entendu, ce projet a également impliqué d'importants frais. Je tiens donc à mentionner le soutien financier offert gracieusement par le groupe Québec-Océan et par le C.R.S.N.G. Encore sur le plan financier, le support du département de biologie de l'Université Laval et de l'AÉLIÉS m'a permis de présenter le fruit de mes expérimentations au congrès de la Société Canadienne de Zoologie en 2005.

Il y eu des épreuves que seuls les gens très près de moi partagèrent au fil de ces mois. Je souligne ici la présence de mes amis qui m'ont permis de décrocher et de lâcher prise quand j'en ai eu le plus besoin. Ma mère Andrée, mon père Richard et mon petit frère Michaël, ma merveilleuse famille fut l'assise sur laquelle j'ai pu évoluer à la fois sur le plan personnel et au sein de ce projet. Finalement, chère Catherine, tu as su voir à travers toutes mes tentatives de te cacher mes angoisses et supporter toutes les fois où je n'ai même pas essayé de te les dissimuler. Une énorme partie de ce travail t'est dédié. Merci milles fois...

*À Hugo,
pour son courage.*

LISTE DES TABLEAUX

		Page
Table 2.1	Weight of parent individuals and relative fertilization success of males	34
Table 2.2	Weight, length and protein content of offspring fathered..... by anadromous males and by mature parr and for both females	35
Table 2.3	Results of statistical analysis of the effect of paternal..... reproductive tactic and of maternal identity on weight, length and protein content of offspring	36

LISTE DES FIGURES

		Page
Figure 1.1	Nombre de saumons ayant remonté les rivières nord-américaines..... entre 1971 et 2003 (estimé avant pêche)	4
Figure 1.2	Tacon mâle sexuellement mature.....	7
Figure 1.3	Section transversale d'un alevin de saumon Atlantique..... à l'éclosion	13
Figure 2.1	A) Body location of cross section for muscle cellularity..... B and C) Representative subsections sampled for the analysis of white fibers	31
Figure 2.2	Effect of paternal reproductive tactics on voluntary swimming..... activity and on enzymatic profiles of offspring (caudal section) A and B) At hatch B and C) At MAWW	39
Figure 2.3	Effect of paternal reproductive tactics on enzymatic..... profiles of offspring (combined activities of caudal and anterior sections) A and B) At hatch B and C) At MAWW	40
Figure 2.4	Total cross sectional area of red..... and white muscles of offspring at hatch	42
Figure 2.5	Frequency distribution of white fiber diameters..... of offspring at hatch	43
Figure 2.6	Frequency distribution of red fiber diameters..... of offspring at hatch	44
Figure 2.7	Total cross sectional area of white muscle versus mean..... white fiber diameter of offspring at hatch	45
Figure 2.8	Total cross sectional area of red muscle versus mean..... red fiber diameter of offspring at hatch	46
Figure 2.9	Total cross sectional area of red muscle versus number..... of red fibers at hatch	47

CHAPITRE 1

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le saumon de l'Atlantique (*Salmo salar* L.)

Caractéristiques générales

Le saumon Atlantique est connu et décrit comme une espèce anadrome effectuant sa croissance et sa maturation sexuelle en eau salée. Si cela demeure la règle pour les femelles, les mâles adoptent une de deux tactiques concernant la reproduction. La tactique «combattante» entraîne une compétition agressive entre les mâles pour l'accès aux oeufs. Dans ce cas, la maturation sexuelle demande plusieurs années dont un an de croissance en mer au minimum. Ensuite, le retour à la rivière d'origine s'effectue pour la reproduction («homings»). Une certaine proportion des mâles opte pour une maturation sexuelle réalisée en eau douce. Durant la période de reproduction, ces tacons mâles matures tentent furtivement de féconder les femelles à l'insu des mâles combattants. L'investissement dans cette maturité sexuelle hâtive ne pourra s'accomplir qu'à l'atteinte d'une taille suffisante (seuil décisionnel) et au détriment de la croissance future et de l'habileté à rivaliser avec les individus combattants (Flemming 1996).

Dans tous les cas, les femelles pondent leurs œufs dans un radier graveleux à raison d'environ 1500 œufs et plus par kilo corporel (Bernatchez et Giroux 2000). Contrairement à d'autres espèces de saumons, les adultes survivent souvent à la reproduction et pourront y reprendre part les années suivantes. Les œufs hivernent dans le gravier et l'éclosion a lieu vers le mois de mai. Entre l'éclosion et l'émergence du gravier, les alevins tirent leurs ressources alimentaires du sac vitellin fourni par la mère. Tout au long de la vie dans le gravier, le corps des alevins s'hydrate suite à la division cellulaire et à la synthèse des structures corporelles et la masse augmente malgré l'absence d'alimentation exogène (Gueguen et Prouzet 1994). À l'émergence, les jeunes ont atteint une masse humide maximale (MHM) et commencent à s'alimenter de façon autonome.

Préoccupations écologiques

Depuis les dernières décennies, le saumon Atlantique fait face à une baisse draconienne de ses effectifs (figure 1.1). Le problème démographique du saumon Atlantique est le même que pour des centaines d'espèces animales et les causes reliées à la présence de l'homme sont nombreuses (destruction de l'habitat, pluies acides, domestication, etc.) (Atlantic Salmon Federation 2003). Un des défis modernes auquel fait face l'espèce est l'intromission de gènes en provenance des saumons d'élevage échappés accidentellement ou relâchés volontairement dans le but d'augmenter la taille des populations au profit de la pêche et de la conservation (Gross 1998, McGinnity et al. 2003). Ces saumons d'élevage ont un « fitness » en nature inférieur à leur contrepartie sauvage. Ce problème très sérieux d'hybridation est accentué par le fait que les tacons matures issus de l'aquaculture ont plusieurs fois le succès reproducteur des tacons sauvages (Garant et al. 2003b). Ces tacons facilitent le processus d'hybridation qui devient une menace réelle pouvant potentiellement conduire à l'extinction de l'espèce (McGinnity et al. 2003).

De plus, les saumons juvéniles relâchés volontairement par les piscicultures, connaissent des taux de croissance supérieurs qui entraînent une plus grande fréquence de maturation sexuelle chez les tacons (Flemming et Petersson 2001). Le modèle de stratégie conditionnelle abordé plus loin, prévoit un équilibre évolutivement stable des deux tactiques de reproduction paternelles dans des conditions normales. Cependant, une pression de sélection accentuée par l'homme sur une tactique de reproduction en particulier peut potentiellement briser cet état d'équilibre. Additionnés à l'augmentation de la pression de pêche centrée sur les grands individus, les impacts de l'aquaculture pourraient potentiellement conduire à la disparition totale du cycle anadrome chez les mâles (Myers 1984). D'ailleurs, la diminution de la fréquence des mâles employant la tactique combattante avec un cycle anadrome est déjà apparente. Dans certaines rivières, les femelles s'adaptent de plus en plus à la présence des tacons matures et sont parfois tenues de se reproduire uniquement qu'avec ceux-ci (Thomaz et al. 1997).

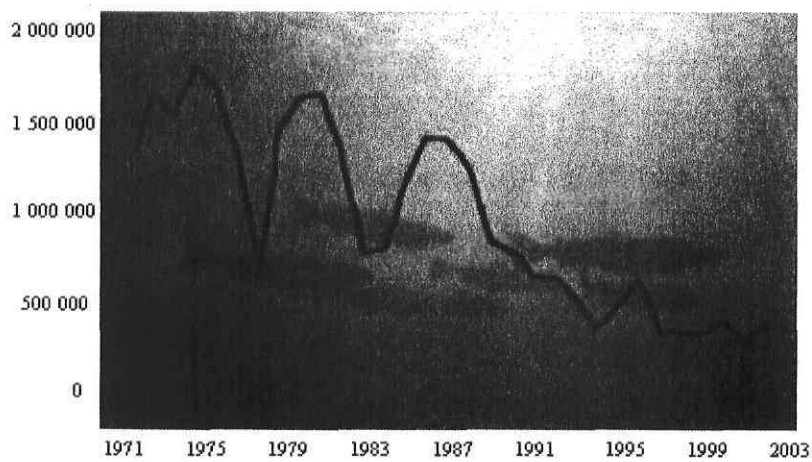


Fig. 1.1 Nombre de saumons ayant remonté les rivières nord-américaines entre 1971 et 2003 (estimé avant pêche). Figure tirée et modifiée du document de Atlantic Salmon Federation (2004): « Status of North American Wild Atlantic Salmon », <http://www.asf.ca>.

Concepts généraux

Stratégies de reproduction

Comme les ressources environnementales sont limitées, les animaux doivent effectuer des compromis relativement à la répartition de l'énergie dans la croissance, l'homéostasie et la reproduction. Cette réalité simple favorise l'évolution de diverses stratégies de reproduction alternatives chez des organismes aussi différents que les arthropodes (Brockmann 2001, Cook et al. 1997, Emlen 1997, Frankino et Juliano 1999, Heinze et Keller 2000, Kurdziel et Knowles 2002, Moczek et Nijhout 2003, Roff et Gélinas 2003, Rüppell et Heinze 1999, Shuster et Wade 1991, Tomkins 1999), les poissons (Fu et al. 2001, Gross 1984 et 1985, Ryan et al. 1992, Sigurjónsdóttir et Gunnarsson 1989), les oiseaux (Badyaev et Hill 2002, Lank et al. 1995, Tuttle 2002), les reptiles (Alonzo et Sinervo 2001, Sinervo et Zamudio 2001) et les mammifères (Utami et al. 2002). Les écologistes comportementaux ont récemment documenté plusieurs concepts théoriques qui permettent d'expliquer les réponses alternatives que les organismes ont à fournir face à des changements planétaires rapides (Gross 1991, 1996, Smith 1982). Résultat de ces travaux, il existe désormais un certain consensus quant aux modèles employés dans l'analyse des stratégies de reproduction.

Dans un premier temps, les stratégies de reproduction peuvent être issues d'un polymorphisme génétique. Ces stratégies et les phénotypes associés à celles-ci sont alors tout simplement transmises des parents aux rejetons suivant les lois mendéliennes (Lank et al. 1995, Ryan et al. 1992, Shuster et Wade 1991). Dans un deuxième temps, les différents phénotypes exprimés peuvent être issus d'une seule et même stratégie de reproduction (monomorphisme génétique) comprenant plusieurs tactiques (ou phénotypes) alternatives. Selon Gross (1996), les postulats vérifiant l'existence de cette *stratégie conditionnelle* sont que l'animal effectue un «choix» de tactique (et adopte par le fait même un phénotype particulier) et qu'il effectue ce choix selon son statut individuel (taille, condition, etc.). Le «fitness» associé à chaque tactique est typiquement inégal, mais le phénotype adopté permet théoriquement l'atteinte d'un «fitness» individuel optimal à long terme. La

coexistence de deux tactiques conférant des «fitness» inégaux est théoriquement possible (Gross et Repka 1998a, 1998b), mais la démonstration de cet état d'équilibre dépasse le cadre de cette introduction. Finalement, le «fitness» reproducteur conféré par un phénotype en particulier dépend en partie de la présence de celui-ci chez les autres membres de la population (sélection fréquence-dépendante négative) (Smith 1982).

Dans la stratégie conditionnelle, l'atteinte d'un seuil décisionnel («threshold») interne basé sur le statut individuel, dictera le choix de tactique à employer. La position de ce seuil physiologique et donc le choix de tactique, sont dépendants à la fois des environnements externe et génétique que connaît un individu (Flemming 1996). La stratégie conditionnelle est aujourd'hui considérée comme le cadre explicatif de plusieurs cas de stratégies de reproduction avec tactiques alternatives, notamment chez le saumon Atlantique mâle. Chez cette espèce pouvant atteindre plus de 25 kg à maturité, les phénotypes reproducteurs sont extrêmement différents et la taille réduite de certains mâles matures (figure 1.2) démontre bien l'ampleur des compromis effectués entre la croissance et la reproduction.

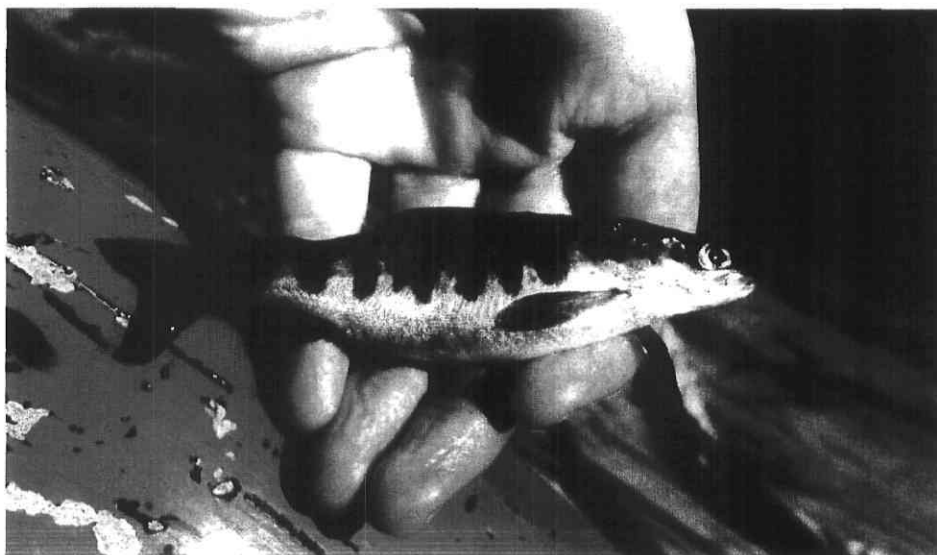


Fig. 1.2 Tacon mâle sexuellement mature. Photographie tirée du site départemental de biologie de l'Université Laval, <http://www.bio.ulaval.ca>.

Croissance somatique et budget énergétique

Dans la stratégie conditionnelle, le choix d'une tactique de reproduction s'appuie souvent sur la croissance et la taille qui déterminent en grande partie le statut individuel. Les poissons sont des organismes singuliers qui ont la possibilité de croître tout au long de leur vie comparativement aux mammifères par exemple, qui croissent jusqu'à l'atteinte d'une taille adulte définie. Ce qui détermine le ralentissement (ou l'arrêt) de cette croissance relève souvent des stratégies employées pour faire face aux diverses contraintes énergétiques. Cette section tente de décrire brièvement ces contraintes particulières et les stratégies possibles qui peuvent s'y rattacher.

Le registre aérobie disponible pour l'accomplissement de l'ensemble des fonctions physiologiques peut être mesuré via la consommation d'oxygène et est définie par l'équation suivante (Wieser 1991):

$$VO_{2r} \text{ max} - VO_{2st}$$

où $VO_{2r} \text{ max}$ est la consommation d'oxygène maximale de l'organisme étudié et où VO_{2st} est le taux de consommation d'oxygène (ou taux métabolique) standard (TMB). Le TMB est l'énergie que dépense un organisme à jeun, au repos et ne subissant aucun stress (Hochachka et Somero 2002). Une autre façon de visionner le budget énergétique d'un organisme est décrite par l'équation suivante présentée par Jobling (1994) :

$$R = F + U + M + P$$

où R représente l'apport énergétique fourni par la nourriture, où F et U sont les pertes énergétiques via les fèces et l'urine, où M est l'énergie consommée par le métabolisme et finalement, où P représente le «capital» énergétique disponible à l'ensemble des fonctions de production dont la croissance et la reproduction. La composante «M» contient un paramètre appelé le coût de la croissance («Cost Of Growth» (COG)). Le COG représente

en fait l'énergie nécessaire au soutien de la production de nouveaux tissus (jusqu'à 49% du contenu énergétique du nouveau tissu formé) (Rombough 1994).

Chez les poissons, ce qui distingue en grande partie les alevins dépendants de ressources alimentaires endogènes des juvéniles et des adultes, est l'incapacité de compenser un éventuel manque énergétique par une plus grande activité d'alimentation. En plus, les alevins vésiculés font face à des contraintes énergétiques uniquement à cause de leur petite taille et de leur propension à croître rapidement (sujet revu par Wieser 1991, 1994 et 1995). Le TMB (ou VO_{2st}) est élevé chez les petits poissons qui possèdent conséquemment, un faible registre aérobie. De plus, comme le taux de croissance est à son maximum chez les alevins, le coût associé à la formation de nouveaux tissus est élevé. Chez les petits poissons, et à plus forte raison chez ceux qui s'alimentent à partir d'un vitellus, le budget énergétique est donc très serré et l'énergie nécessaire à la seule croissance journalière pourrait théoriquement excéder le registre aérobie (Rombough 1994). Comme cela est physiologiquement impossible, les alevins vésiculés ont donc une série de compromis à effectuer et de stratégies à employer afin de respecter leur budget énergétique. Cela peut signifier de ralentir la différenciation des différents systèmes (nerveux, digestif, etc.) au profit de la croissance somatique, d'améliorer la déposition protéique, de supprimer le « turnover » protéique ou certaines fonctions métaboliques, etc. (Wieser 1995). À long terme, le taux de croissance est souvent indépendant de la consommation d'oxygène chez les alevins de poissons. Cela pourrait constituer la preuve qu'il y a effectivement réassignation d'énergie en provenance d'autres fonctions physiologiques afin de soutenir la croissance (Rombough 1994, Wieser et al. 1988).

Les poissons juvéniles et adultes ont également à composer avec des contraintes énergétiques et à employer diverses stratégies afin de les accommoder. Par exemple, chez le saumon Atlantique, l'atteinte d'une taille critique (accumulation d'énergie suffisante) détermine principalement le choix d'un juvénile de devenir sexuellement mature (Aubin-Horth et Dodson 2004, Berglund 1992, Rowe et Thorpe 1990, Whalen et Parrish 1999). Cependant, ce « choix » d'atteindre la maturation sexuelle chez l'adulte va souvent à l'encontre de la croissance somatique par la suite (Koch et Wieser 1983, Wieser 1994).

Alors que chez le saumon Atlantique, la conservation d'une petite taille avantage le succès reproducteur des mâles au comportement furtif (capacité accrue à se cacher), l'atteinte d'une taille importante permet aux grands mâles anadromes d'obtenir un avantage compétitif. Il est clair que l'emploi de ces stratégies distinctes, basées sur une gestion différente des contraintes énergétiques, permet souvent une exploitation partagée des ressources.

Croissance musculaire

Chez les poissons, le muscle représente le tissu le plus abondant (65 % de la masse chez les salmonidés) (Johnston 2001). Il est donc logique que les stratégies énergétiques affectant la croissance soient reflétées au sein du muscle et de ses fonctions. Même si la croissance somatique peut être estimée via la masse et la longueur, il ne s'agit que de mesures indirectes et peu sensibles de la croissance musculaire. Pour ces raisons, l'analyse du cellularisme musculaire est un exercice plus profitable (Rowlerson et Veggetti 2001).

La croissance du muscle s'effectue de deux façons : par hypertrophie des fibres musculaires existantes et par recrutement de nouvelles fibres musculaires (hyperplasie) (Rowlerson et Veggetti 2001). Chez les poissons atteignant de grandes tailles, l'hyperplasie des fibres musculaires est caractérisée par deux phases successives. Pendant la phase hyperplasique initiale, les cellules sont recrutées à partir d'une couche superficielle entourant le myotome (hyperplasie stratifiée). Plus tard dans la vie du poisson, les nouvelles cellules prennent naissance à travers l'ensemble du myotome qui adopte l'allure d'une mosaïque cellulaire où alternent des cellules de fort et de faible diamètres (hyperplasie mosaïque) (Alami-Durante et Rescan 2003). Les noyaux cellulaires nécessaires à la production et à la croissance des nouvelles fibres proviennent d'une population de cellules satellites non différenciées (Fauconneau et Paboeuf 2001). Relativement peu de choses sont connues des cellules satellites et de leur origine chez les poissons. Contrairement aux mammifères qui doivent effectuer leur croissance à partir d'un nombre défini de cellules musculaires, les poissons, qui conservent souvent une capacité de croissance significative pendant très longtemps, disposent d'une population renouvelable de ces cellules souches (Johnston et al. 2000).

L'importance relative de l'hyperplasie et de l'hypertrophie varie de façon marquée tout au long du développement (Rowlerson et Veggetti 2001). Alors que l'hyperplasie cellulaire diminue avec l'âge (et finie par s'arrêter complètement), la phase d'hypertrophie se poursuit tout au long du cycle vital, mais les fibres cessent de croître après l'atteinte d'une taille maximale variant entre 100 et 300 μm de diamètre (Rowlerson et Veggetti 2001). Cela va de paire avec une diminution progressive de la prolifération des cellules satellites avec l'âge (Fauconneau et Paboeuf 2001).

L'importance relative de l'hyperplasie et de l'hypertrophie varie non seulement durant le développement, mais également selon des facteurs environnementaux (Bjornevik et al. 2003, Johnston et al. 1998, Nathanailides et al. 1995) et génétiques (Johnston et McLay 1997) qui influencent la croissance et la taille finale atteinte chez plusieurs espèces. Par exemple, une espèce susceptible d'atteindre une taille finale importante aura la capacité de recruter de nouvelles cellules musculaires plus longtemps, alors qu'une espèce plus petite atteindra sa taille ultime plutôt par hypertrophie cellulaire (Weatherley et Gill 1985). Chez le saumon Atlantique (Johnston et McLay 1997, Johnston et al. 2000, Higgins et Thorpe 1990) et la truite arc-en-ciel (Valente et al. 1999, Weatherley et al. 1980) une croissance rapide est associée à un taux de recrutement important de nouvelles cellules musculaires parfois déjà chez les alevins. Une fibre musculaire de petite taille est plus apte à croître rapidement à cause de sa capacité à assimiler plus efficacement les nutriments par diffusion (ratio surface volume élevé) qu'une fibre de plus grand diamètre. Le recrutement de petites fibres représente donc en quelque sorte un investissement dans la croissance future par hypertrophie (Weatherley 1990).

Fibres musculaires

Les myotomes sont composés essentiellement de deux types de fibres. D'une part, les fibres à contraction rapide glycolytiques, plus faiblement vascularisées et pauvres en myoglobine et en mitochondries, composent plus de 90 % du myotome. D'autre part, les fibres à contraction lente oxydatives, très vascularisées et riches en mitochondries, se présentent comme une mince couche cellulaire située juste sous la ligne latérale et s'étendent le long

de l'axe dorsiventral (Johnston 2001). Il existe également un type de fibre intermédiaire chez la plupart des espèces : les fibres roses. Elles se situent sur toute la longueur du corps aux abords du septum horizontal du myotome (figure 1.3) (Rowlerson et Veggetti 2001). Au stade larvaire, les fibres rouges occupent toute la périphérie du myotome. Elles feront ensuite peu à peu place aux fibres blanches aux apex des myotomes où la prolifération de ces dernières est très rapide durant les très jeunes stades. Une fois cette phase de multiplication apicale des fibres blanches terminée, les fibres oxydatives lentes vont couvrir à nouveau l'ensemble de la surface du myotome (Rowlerson et Veggetti 2001).

Au début de leur vie, les poissons ont une respiration entièrement cutanée (autorisée par un fort rapport surface volume) où la surface du corps devient garante de la surface respiratoire (Gisbert et al. 2001). De plus, les alevins ont un métabolisme presque entièrement aérobie (Wieser 1991 et 1995). Le fonctionnement métabolique des alevins dépend donc d'un apport d'oxygène par diffusion à l'ensemble du corps. Dans ce contexte, l'organisation spatiale des différents types de fibres musculaires a donc une grande importance. Pendant cette étape de respiration cutanée, le muscle rouge situé juste sous la peau et le réseau sanguin qui le perfuse, ont une fonction respiratoire importante appelée à diminuer graduellement avec le développement de la respiration branchiale.

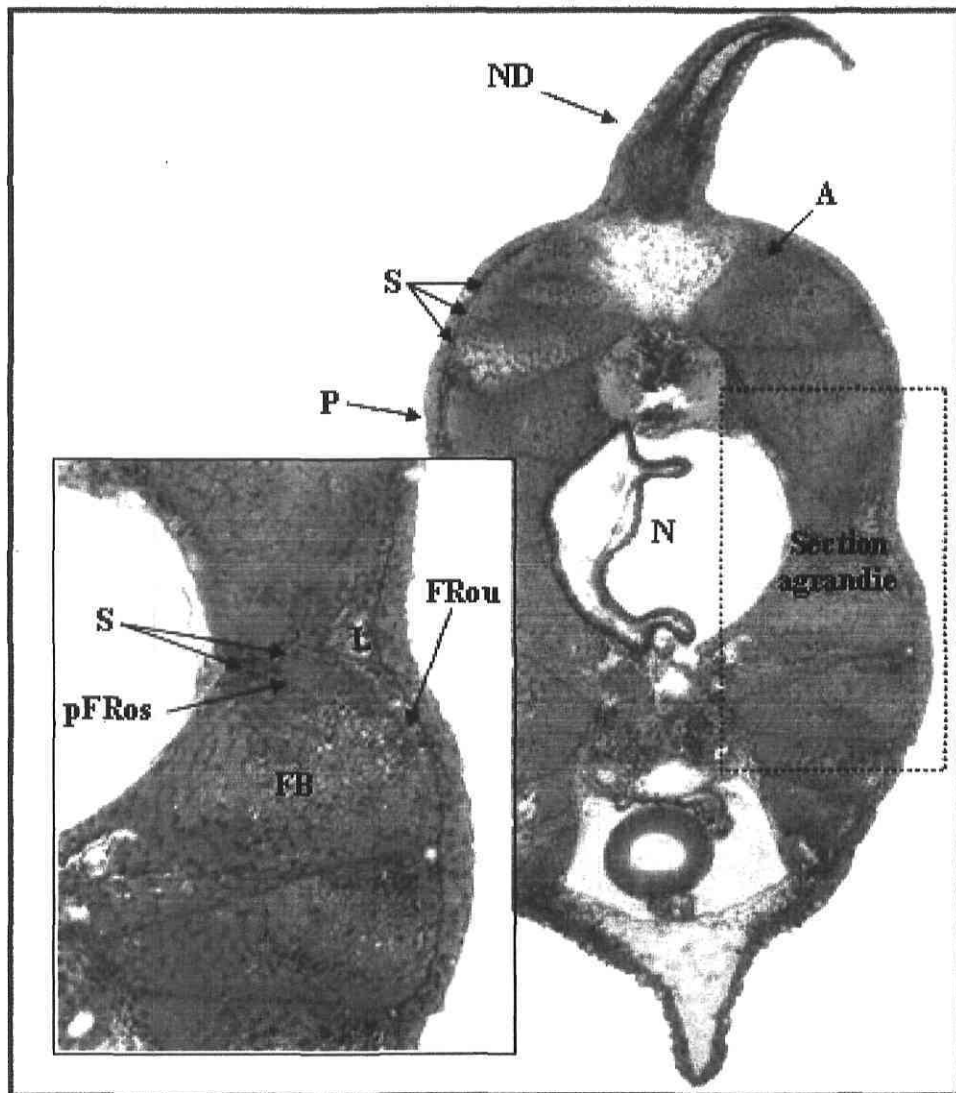


Fig. 1.3 Section transversale d'un alevin de saumon Atlantique à l'éclosion, coloration haematoxylin-eosin. A = régions apicales, ND = nageoire dorsale, S = septum, P = peau, N = notocorde, FB = fibres blanches, FRou = fibres rouges, pFRos = fibres roses présumées, L = ligne latérale.

La nage

Le mode de déplacement chez les poissons est intimement relié aux différents types de fibres musculaires. À ce titre, les fibres blanches glycolytiques sont davantage utilisées dans les réponses de fuite et les manœuvres rapides alors que les fibres rouges oxydatives sont plutôt mobilisées lors de la nage soutenue ou de «croisière» (Bone 1978). La nage chez les poissons est une activité extrêmement coûteuse et la consommation d'oxygène augmente de façon marquée avec l'augmentation de l'activité de nage. De plus, le coût de transport pour un petit poisson est beaucoup plus grand que pour un poisson de taille plus importante (Forstner et Wieser 1990, Jobling 1994, Wieser et al. 1988, Wieser 1991)

Les alevins de plusieurs espèces comme le saumon Atlantique dépendent des réserves vitellines fournies par la mère jusqu'à l'émergence du gravier. Pendant cette période en «vase clos», l'activité est réduite à un minimum. Malgré cela et considérant un budget énergétique fini, toute activité volontaire, si elle est importante, est susceptible d'être effectuée au détriment des autres processus physiologiques comme la croissance somatique (Koch et Wieser 1983, Wieser et al. 1988). C'est uniquement suite à la résorption du vitellus que la nage devient un mode actif d'acquisition de nourriture et d'énergie indispensable à la croissance. Encore une fois, il est donc évident que des compromis s'imposent et que des stratégies énergétiques distinctes peuvent exister concernant l'acquisition hâtive de tous les processus de différenciation nécessaires à la nage. De tels compromis sont susceptibles de se trouver au cœur de la problématique reliée aux stratégies conditionnelles employées chez nombre d'espèces.

Capacités métaboliques

Les différents compromis et stratégies énergétiques, eux-mêmes dépendants de l'interaction de facteurs génétiques et environnementaux, influenceront la composition corporelle et donc, les capacités métaboliques des animaux. Un développement plus important du muscle par exemple, entraînerait l'augmentation de l'activité des enzymes reliées à l'activité musculaire. De plus, des différences d'intensité métabolique entre les individus pourraient

être reflétées dans des capacités aérobie et anaérobie différentes, soit dans l'organisme entier, soit dans des organes spécifiques. L'activité enzymatique est un indicateur intéressant à cause de sa grande plasticité (Patterson et al. 2004). La fonction des enzymes étudiées dans le cadre de la présente étude est décrite dans cette section.

La créatine kinase (CK) est présente surtout dans le tissu musculaire et a pour fonction de fournir l'ATP nécessaire aux premières secondes d'une nage précipitée (Garenc et al. 1999, Guderley et al. 2001). La proportion du muscle blanc croît avec le développement ontogénique chez les poissons et l'activité de la CK peut logiquement traduire le niveau de développement musculaire atteint à un stade donné.

L'acétylcholinestérase (AChE) hydrolyse l'acétylcholine libérée aux jonctions synaptiques musculaires et est donc directement reliée avec le développement du système nerveux associé aux muscles. L'activité de l'AChE peut donc indiquer l'avancement de l'acquisition du patron neuromusculaire adulte (Johnston et al. 2001).

La cytochrome C oxydase (CCO) fait partie intégrante de la mitochondrie et de la chaîne de transport des électrons et est susceptible d'y limiter les taux de synthèse d'ATP. La citrate synthase (CS) est une enzyme mitochondriale qui s'intègre au cycle de Krebs en y catalysant la première réaction (Pelletier et al. 1993). La lactate déshydrogénase (LDH) est l'enzyme glycolique qui permet l'inter conversion de lactate et de pyruvate (Hochachka et Somero 2002). L'activité de la CCO et de la CS reflètent la capacité maximale à consommer l'oxygène, alors que l'activité de la LDH traduit la capacité anaérobie de l'organisme (Garenc et al. 1998, Goolish et Adelman 1987, Guderley et Gawlicka 1992, Hochachka et al. 1982, Nathanailides et Stickland 1996). De plus, selon que l'on observe l'activité des ces trois enzymes dans un échantillon essentiellement composé de muscle, elle peut au même titre que la CK, indiquer l'avancement du développement musculaire.

Finalement, l'utilisation des protéines comme source d'énergie entraîne la production d'azote. Cet azote non métabolisable provient de la partie aminée des acides aminés, retirée par transdésamination ou par désamination (Jobling 1994). La glutamate déshydrogénase

(GDH) catalyse l'étape finale (la désamination du glutamate) d'une série de réactions chimiques. Cette enzyme est régulée par de nombreux facteurs (ADP, AMP, ATP, etc.) et fait le pont entre le métabolisme énergétique et celui de l'azote (Kuo et al. 1994, Zatta et al. 2000). La GDH peut être utilisée comme indicatrice de la capacité à excréter l'azote issu du métabolisme des protéines (Berges et al. 1993, Bidigare et King 1981, Pelletier et al. 1993, Singer et Ballantyne 1991)

L'activité des enzymes est étroitement soumise aux effets allométriques et l'utilisation de l'information donnée par celles-ci ne peut être valide qu'en considérant la masse des individus (Childress et Somero 1990). De plus, l'activité enzymatique mesurée *in vitro* renseigne sur l'efficacité et la concentration de l'enzyme dans l'organisme et donc, sur le potentiel métabolique, mais n'indique pas l'utilisation *in vivo* de ce potentiel (Matschak et al. 1998).

Projet de maîtrise

Depuis quelques années, des travaux portant sur la transmission génétique des tactiques de reproduction chez le saumon Atlantique ont été entrepris sous la direction du Dr. Dodson. Dans cette optique, Garant et al. (2002) ont démontré que les alevins vésiculés issus de tacons matures connaissent des taux de croissance supérieurs (rétro calculs à partir des otolithes) à ceux engendrés par des pères anadromes. Or, il est maintenant reconnu que les juvéniles qui connaissent des taux de croissance supérieurs sont plus susceptibles de devenir des tacons matures (Aubin Horth et Dodson 2004, Berglund 1992, Rowe et Thorpe 1990, Whalen et Parrish 1999). Par des croisements expérimentaux, Glebe et Saunders (1986) ont également démontré que comparativement aux mâles anadromes, les tacons matures engendrent plus de tacons matures.

L'association récente du Dr. Guderley à ces travaux a fourni quelques pistes quant aux mécanismes pouvant être responsables de ce déterminisme génétique (Guderley et al. en préparation). Ces expériences ont indiqué que les alevins issus de tacons matures ont des taux de consommation d'oxygène et d'excrétion d'azote sensiblement supérieurs aux alevins issus de mâles anadromes.

Parallèlement, Tucker et Rasmussen (1999) suggèrent que la stratégie d'un tacon appelé à devenir sexuellement mature est axée sur la capacité de consommer de grandes quantités d'énergie. Les tacons en processus de maturation sexuelle connaissent ainsi des taux d'ingestion de nourriture plus élevés que les tacons immatures, ce qui entraîne les taux de croissance supérieurs qui les caractérisent. Une efficacité de croissance moindre serait la conséquence de cette stratégie énergétique «agressive» qui entraîne un coût de nage et une ration d'entretien plus élevés. Dans le même ordre d'idée, une des prémisses de la présente étude est que cette stratégie énergétique des tacons matures est à un certain degré, génétiquement transmise à la progéniture et entraîne des conséquences physiologiques mesurables. L'étude de ces impacts est sans aucun doute facilitée pendant la période où les rejetons sont entièrement dépendants des ressources alimentaires fournies par la mère et où l'influence du milieu est donc plus limitée.

Hypothèses

1) Acceptant l'observation d'une croissance accélérée chez les tacons appelés à devenir sexuellement matures (Aubin Horth et Dodson 2004, Berglund 1992, Rowe et Thorpe 1990, Whalen et Parrish 1999) et plus particulièrement chez les alevins vésiculés issus de tacons matures (Garant et al. 2002), nous devrions observer des paramètres de croissance (taille, masse, quantité de protéines corporelles) supérieurs chez ces derniers.

2) L'activité enzymatique, reliée au développement musculaire (quantitativement et qualitativement), est sensible aux variations génétiques dont celles susceptibles d'agir chez les alevins issus des différentes tactiques de reproduction (Garenc et al. 1998). Une croissance plus rapide chez les rejetons de tacons matures affecterait positivement l'activité enzymatique (Guderley et al. 2001, Pelletier et al. 1993).

3) Une croissance plus rapide devrait entraîner un développement musculaire plus important dès l'éclosion. Comme un taux de croissance élevé est associé à l'hyperplasie cellulaire dans le muscle du saumon Atlantique, un grand nombre de fibres de petite taille devrait être relevé chez les alevins issus de tacons matures (Johnston et McLay 1997, Johnston et al. 2000, Higgins et Thorpe 1990).

4) D'après nos observations préliminaires (Guderley et al. en préparation) et les résultats de Tucker et Rasmussen (1999) concernant les dépenses métaboliques des alevins et des juvéniles, l'activité de nage volontaire devrait être supérieure chez les rejetons de tacons matures. Une activité de nage augmentée aura le potentiel de favoriser la quête alimentaire et par conséquent, la croissance rapide des alevins suite à la résorption du vitellus.

Objectifs

Acceptant l'hypothèse d'une croissance accélérée chez les alevins vésiculés issus de tacons matures chez le saumon Atlantique (Garant et al. 2002), nous avons tenté de vérifier si la tactique de reproduction paternelle influence les caractéristiques physiologiques des

rejetons pendant la période où ceux-ci sont complètement dépendants des ressources alimentaires endogènes fournies par la mère. Plus précisément, nous avons choisi de faire l'étude d'alevins issus des deux tactiques paternelles aux moments de l'éclosion et de l'atteinte de la masse humide maximale (MHM).

1) Nous avons tout d'abord mesuré les paramètres anatomiques des alevins issus des deux souches paternelles (taille, masse, quantité de protéines corporelles) dans le but de vérifier directement l'hypothèse d'une croissance accélérée chez les rejetons de tacons matures. Nous n'avons relevé à ce titre que très peu de différences significatives entre les deux lignées.

2) Nous avons deuxièmement déterminé le profil enzymatique des rejetons issus des deux tactiques de reproduction. Divers indicateurs enzymatiques ont été mesurés chez des alevins à l'éclosion et à l'atteinte de la MHM. Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence des différences dans les activités enzymatiques reliées aux capacités aérobie, anaérobie et excrétoire chez les alevins issus des deux tactiques de reproduction.

3) Nous avons par la suite mesuré certains indicateurs enzymatiques du développement musculaire et les avons reliés à des observations histologiques directes de la croissance musculaire. Encore une fois, nos résultats démontrent des différences sensibles concernant le développement musculaire entre les alevins issus des deux tactiques de reproduction.

4) Nous avons finalement quantifié l'activité de nage volontaire des alevins issus des deux tactiques paternelles. Cette mesure de l'activité *volontaire* se distingue avantageusement des autres types de mesures qui imposent une vitesse de nage précise lors des mesures de taux métaboliques (Forstner et Wieser 1990, Wieser et al. 1988). Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude ont permis de relier plus précisément les taux métaboliques observés par Guderley et al. (en préparation) à l'activité de nage chez les alevins des deux souches.

CHAPITRE 2

Conditional reproductive strategy in Atlantic salmon (*Salmo salar*. L.):
impact on offspring metabolic capacities and muscle development

Avant-propos

Voici la liste des auteurs qui ont participé à l'article suivant :

Sébastien Morasse ^a, Helga Guderley ^a et Julian J. Dodson ^a

^a *Département de biologie, Université Laval, Québec, Qc., Canada G1K 7P4*

Dans l'élaboration et l'accomplissement de ce projet, Helga Guderley et Julian Dodson ont été codirecteurs. Sous leur supervision, j'ai planifié et réalisé l'ensemble des manipulations expérimentales, l'analyse des résultats et la rédaction de cet ouvrage.

Résumé

Les alevins de saumons Atlantique (*Salmo salar* L.) mâles anadromes ont démontré un développement musculaire plus avancé et des capacités métaboliques supérieures, mais une activité de nage volontaire inférieure aux alevins issus de tacons matures. Les mâles utilisent une stratégie conditionnelle et emploient, soit une tactique de reproduction « combattante » avec une maturation sexuelle en milieu marin, soit une tactique « furtive » avec une maturation entièrement dulcicole (tacons matures). Les alevins vésiculés issus de pères anadromes ont démontré des activités enzymatiques indiquant des capacités aérobie (CCO, CS) et anaérobie (LDH) supérieures. Le profil enzymatique des rejetons de pères anadromes suggérait également une capacité plus grande à excréter l'azote (GDH) et un développement musculaire (CK, LDH, CS et CCO) plus avancé que les rejetons des tacons matures. À l'éclosion, les aires transversales totales des muscles rouge et blanc furent supérieures chez les rejetons issus de pères anadromes, probablement à cause d'un plus grand nombre de fibres de grand diamètre. À l'atteinte de la masse humide maximale (MHM), les rejetons de tacons matures démontrèrent une activité de nage volontaire (% de temps passé en activité) et donc une dépense énergétique, plus intense. Nous suggérons que les capacités métaboliques et le développement musculaire légèrement inférieurs chez les alevins issus de tacons matures, sans affecter la croissance de façon drastique, pourraient être dus à une stratégie énergétique différente pendant la période de résorption du vitellus. Une activité de nage augmentée chez les alevins de tacons matures pourrait favoriser la prise alimentaire suite à la résorption du vitellus.

Abstract

Offspring fathered by anadromous male Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) showed higher muscular development and metabolic capacities but lower voluntary swimming activity than those fathered by mature male parr. Males follow a conditional strategy and either become “combatants” that undertake a seaward migration and spend a minimum of one year at sea, or “sneakers” that remain in freshwater and mature as parr. At hatch and at maximal attainable wet weight (MAWW), enzymatic activities showed higher aerobic (CCO and CS) and anaerobic (LDH) capacities in offspring fathered by anadromous males. Enzymatic profiles of juveniles from anadromous fathers also suggested greater nitrogen excretion capacity (GDH) and increased muscular development (CK, LDH, CS and CCO) than those from mature parrs. At MAWW, juveniles fathered by mature parr showed a greater voluntary swimming activity (% of time spent swimming) and consequently, higher energy expenditure. For juveniles fathered by anadromous males, total cross sectionnal area of white and red muscle were higher at hatch, which was probably due to a greater number of large diameter fibers. We suggest that the slightly lower metabolic capacities and muscular development of alevins fathered by mature parr, without drastically affecting growth, could be explained by a different use of energy during the period of dependence upon endogenous feeding. Greater swimming activity of offspring of mature male parr could favor their feeding after the resorption of the vitellus.

Introduction

As for most animals, many fish species express several reproductive tactics (Fu et al. 2001, Gross 1984, 1985, Ryan et al. 1992, Sigurjónsdóttir and Gunnarsson 1989). These tactics have been extensively studied in salmon, and particularly in Atlantic salmon, *Salmo salar* (Aubin-Horth and Dodson 2004, Berglund 1992, Garant et al. 2002, 2003a, 2003b, Glebe and Saunders 1986, Whalen and Parrish 1999). In this species, male reproductive phenotypes are extremely different and suggest marked energy tradeoffs between investment in growth and sexual maturity. The two tactics coexist in a given population and most of the time, on the same spawning site (Taborsky 1998). The “fighting” tactic favours aggressive behaviour (blows, bites, etc.) and involves competition between males for access to nests and females. In males adopting the fighting tactic, sexual maturation takes several years including two to three years in fresh water, followed by at least a year in sea water during which growth is accelerated. Then and after assuming the price of predation (both at sea and in fresh water), adults return to natal rivers to reproduce. On the other hand, many males mature earlier (one to three years) and live entirely in fresh water. During spawning, these mature parr try to “sneak” toward females to fertilise the eggs without being spotted by combatant males and can achieve considerable success (Flemming 1996). Clearly, early sexual maturation does not require a large size or skill in fighting with large anadromous males.

Phenotypic plasticity is the ability of one genotype to produce more than one phenotype. Male Atlantic salmon employ at least two distinct reproductive tactics within the framework of the *conditional strategy* (genetic monomorphism) recently documented by behavioural ecologists (Gross 1991, 1996, Smith 1982). The model describing conditional strategy stipulates that the choice of tactic is done accordingly to the animal’s status (depending on size, condition factor, growth capacities, etc.) relative to others in the population. This choice will maximise the individual’s lifetime reproductive success which is in turn, influenced by the tactics used by other individuals in the population (negative frequency-dependent selection). More specifically, the choice of tactic is dictated by the capacity of an animal to attain a fixed physiological threshold. It is clear that on one hand,

the threshold position is strongly determined by the biotic and abiotic environments but it also may be influenced by parental genotype (Gross and Repka 1998, 1998b).

In a general fashion, growth in freshwater influences the choice of reproductive tactic by male Atlantic salmon. Fast growth during this period encourages sexual maturation of parr as early as emergence from the nest (Aubin-Horth and Dodson 2004, Berglund 1992, Whalen and Parrish 1999). Moreover, under experimental conditions, juveniles fathered by mature parr grow faster (as estimated by otoliths) than those fathered by anadromous males during early ontogenesis (Garant et al. 2002). Faster growth in the case of parr destined to become sexually mature, could be explained by a different bioenergetic strategy including higher food ingestion and metabolic rates (Tucker and Rasmussen 1999).

In fish, somatic mass is mainly represented by muscle (approximately 65 % in salmonids) (Johnston 2001). Genetic factors affecting growth and bioenergetic strategies should thus be expressed within muscle and muscle capacities. Muscle development and growth can occur in two ways: (1) hypertrophy of existing muscle cells and (2) recruitment of new fibers (hyperplasia) (Rowlerson and Veggetti 2001). The relative importance of hyperplasia and hypertrophy varies with ontogeny (see Rowlerson and Veggetti 2001), species (Weatherley and Gill 1985), growth (Johnston et al. 2000, Higgins and Thorpe 1990, Valente et al. 1999, Weatherley et al. 1980) and parental genome (Johnston and McLay 1997). It also varies with external factors like temperature (Johnston et al. 1998, Nathanailides et al. 1995) and diet (Bjornevik et al. 2003). Many of these studies indicate that insights into future growth can be obtained from observation of muscle cellularity in young stages.

Myotomes are primarily made up of two types of fibers. The fast glycolytic fibers, only slightly vascularised and characterised by low contents of myoglobin and mitochondria, compose more than 90 % of the myotome. In contrast, the slow oxidative fibers are highly vascularised and mitochondria rich and form a thin layer of fibers just under the lateral line that extends along a dorsal-ventral axis (Johnston 2001). Fast glycolytic fibers are used during burst swimming and sprints whereas oxidative fibers are recruited during extended

swimming (Bone 1978). In larval fish, swimming, growth and all physiological processes are integrated into a tight energy budget (reviewed by Wieser 1991, 1994, 1995), particularly during the period when larvae depend on endogenous nutrients.

In this study, we examined whether the alevins fathered by mature parr demonstrate the physiological capacities commensurate with faster growth rates. Specifically we compared offspring fathered by anadromous males with those fathered by mature parr at hatch and at maximum attainable wet weight (MAWW). The study of genetic determinants is without any doubt, facilitated during the period when the progeny is entirely dependent on the nutrients provided by the mother and when the influence of external environment is limited. First, we measured different parameters directly related to growth (length, mass and protein content). We then used enzymatic indicators to evaluate the metabolic capacity of the alevins, focussing upon aerobic capacity (as revealed by cytochrome C oxidase (CCO) and citrate synthase (CS)), glycolytic capacity (using lactate dehydrogenase (LDH) as an indicator) and nitrogen metabolism (as revealed by glutamate dehydrogenase (GDH)). We also used the activities of creatine kinase (CK) (together with those of LDH, CCO and CS) and acetylcholinesterase (AChE) in the caudal section of the alevins as proxies for the development of muscle fibers and their innervation. We reasoned that the total activity of those enzymes in this section gives insight into the amount of red and white muscle whereas the mass specific activities indicate the metabolic intensity each enzyme can support (Patterson et al. 2004). Subsequent assays on muscle cellularity (fiber number and area) aimed at comparing muscle development in young from the two broodlines at hatch. Finally, we quantified voluntary swimming in these broodlines to verify the hypothesis of higher activity in alevins from the mature parr lineage.

Material and methods

Breeding conditions and holding

In October 2003, adult salmon (two females, “F01” and “F02”, two anadromous males, “MA01” and “MA02”, and four mature parr, “MP01”, “MP02”, “MP03” and “MP04”) were captured on the north-eastern branch of Sainte-Marguerite River (48°20' N, 70°00' O), Québec, Canada. Sperm of males employing the same reproductive tactic was mixed to form two batches. For each mature parr, sperm was completely withdrawn. However, only 3 ml of sperm were used for the anadromous males. The two batches were used to fertilise 1000 eggs from both females (total of 2000 eggs, mixed beforehand). For subsequent genetic assays, adipose fins of all parents were preserved in 95 % ethanol. Eggs were transported within 24 hours to the LARSA (Laboratoire Régional des Sciences Aquatiques), Laval University, Québec, Canada. Eggs were incubated in drawers placed inside an environmental room at 4 °C until hatch. Holding conditions were exactly the same for both broodlines. Dates of hatch (50% hatch in drawers) and of maximum attainable wet weight (MAWW) were predicted using the WINSIRP software (Jensen et al. 1992). Based on the measurement of morphological characters such as total length, somite pairs and caudal fin rays (Gorodilov 1996), we found no differences between the two progeny. Thus, in this experiment, we considered that alevins fathered by anadromous males and by mature parr reached the same developmental state.

Determination of voluntary swimming activity

At MAWW, voluntary swimming activity of alevins (50 from each broodlines) was measured. At hatch, young Atlantic salmon were practically motionless and consequently, voluntary swimming was not measured. Voluntary swimming was observed inside Petri dishes (9 cm) filled with water from the incubator. A 5 min habituation period was allowed before the beginning of the observations. Fish were then filmed for 15 min using a digital camera (PV-DV702-K, Panasonic). In subsequent video analysis, individual movement was measured only if considered independent of previous movements of the same alevin (at

least 5s between two movements). The mean duration of these independent movements was calculated from randomly selected sequences using a function of the JMP IN software (version 5.1, SAS Institute) : 30 sequences from offspring fathered by mature parr and 30 sequences from offspring fathered by anadromous males. During the 15 min period, percentage of time spent swimming could thus be estimated. The mean duration of a movement (4.4 ± 0.68 sec) was similar for the two broodlines ($p = 0.31$).

Determination of anatomical parameters, protein content and enzyme activity

For each sampling period, 50 fish from each broodline were killed by cervical dislocation and immediately frozen at -80 °C until assays. In preparation for assays, fish were maintained on ice, lightly dried with tissue paper and weighed before and after dissection of yolk. Length was measured using digital images of the fish while alive with the ImageJ software (version 1.33u, National Institutes of Health, USA). Fish were dissected into two sections (caudal and anterior) at the level of dorsal fin insertion. Both sections were immediately homogenised in ten volumes of $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{PO}_4$ (100 mM), Triton X-100 (0.1% v/v) and EDTA (5-mM), pH = 7.0. Homogenisation was performed using a 2 mL ground glass tissue grinder. 50 μ l of the homogenate was frozen at -20 °C for protein content determination. Each homogenate was then centrifuged for 10 min at 500 x G (Micromax, IEC) and the supernatant was used for assays. The pellets were transferred to -80 °C for later genetic analyses.

Enzymatic assays were carried out in a temperature-controlled chamber at 20 °C using a spectrophotometer (SpectraMax 190, Molecular Devices) coupled to the Softmax Pro software for data recovery (version 4.6, Molecular Devices). Determination of GDH, LDH and CK activities followed NADH and NADPH at 340 nm (micromolar extinction coefficient = 6.22). CS and AChE activities were followed at 412 nm to detect transfer of sulfhydryl and thiocholine groups respectively to 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) (micromolar extinction coefficient = 13.6). Finally, CCO activity was measured following oxidation of reduced cytochrome C at 550 nm (micromolar extinction coefficient = 19.11). The pH of all solutions was adjusted at 20 °C and enzyme activity was determined in a

linear part of the curve O.D./time equivalent to a minimum of four minutes. Enzyme assay conditions were based on Guderley et al. (2001), Lassiter et al. (2003) and Kuo et al. (1994). Maximum activities were obtained under the following conditions :

CS: 100-mM Tris-HCl, 0.1-mM DTNB, 0.1-mM acetyl CoA, 0.5-mM oxaloacetate (omitted for control), pH = 8.0.

CCO : 75-mM $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{PO}_4$, pH = 7.5, 0.075-mM cytochrome C reduced with sodium hydrosulfite. Excess sodium hydrosulfite was removed by bubbling the samples with air.

CK : 100-mM Tris-HCl, 3.3-mM MgCl_2 , 0.3-mM NADP, 3.3-mM Glucose, 0.75-mM ADP, 5mM-AMP, excess levels of glucose-6-phosphate dehydrogenase and hexokinase, 36-mM creatine phosphate (omitted for control), pH = 7.5.

AChE : 100-mM $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{PO}_4$, 0.1-mM DTNB, 2-mM acetylthiocholine (omitted for control), pH = 8.0.

GDH : 50-mM Imidazole-HCl, 250-mM ammonium acetate, 0.1-mM EDTA, 0.1-mM NADH, 1-mM ADP, 14-mM α -ketoglutarate (omitted for control), pH = 7.4.

LDH : 50 mM Imidazole-HCl, 0.16-mM NADH, 4-mM pyruvate (omitted for control), pH = 7.5.

All enzymes were measured in the caudal section, largely composed of muscle and excluding the major vital organs. In addition, CCO, GDH and CS activities were measured in the anterior section. All assays were performed in duplicate. Enzyme activities were expressed in international units (one unit "U" is the amount of enzyme producing 1 μmol of product per min at 20 °C). Protein determination followed the method using bicinchoninic acid (Smith et al. 1985).

Evaluation of muscle development

The protocol used for the study of muscular cellularity was modified from Johnston and McLay (1997). Following identification of the parents as described below, 5 alevins per family (8 families) were killed by cervical dislocation, fixed in Bouin's fluid, dehydrated in an ethanol gradient and impregnated with liquid paraffin. Cross-sections (7 mm thick) were made, coloured with haematoxylin and eosin and mounted on slides. Cellularity was analysed at the dorsal fin insertion (figure 2.1). Digital images of cross sections were taken using a microscope (DMRX, Leica) connected to a camera (DC-300, Leica) and the Image Manager software (version 1.20, Leica). Two subsections were selected for analysis of white fiber number and area (figure 2.1). Johnston and McLay (1997) considered these sections to be representative of the whole cross sectional area of white muscle in Atlantic salmon at hatch. The contour of each fiber located in these subsections was traced (enlargement X 400). All red fibers in half a cross section were analyzed in the same sample. Tracing was carried out using the ImageJ software (version 1.33u, National Institutes of Health, USA) directly on the images.

The parameters measured within the cross sections were thus: 1) total cross sectional area of white muscle, 2) total cross sectional area of red muscle, 3) cross sectional area of white fibers in the representative subsections sampled, 4) cross sectional area of red fibers, 5) total number of white fibers per cross section (deduced from the total area of white muscle and area of white fibers) and 6) total number of red fibers per cross section. Bilateral symmetry was assumed in the final calculation of these parameters.

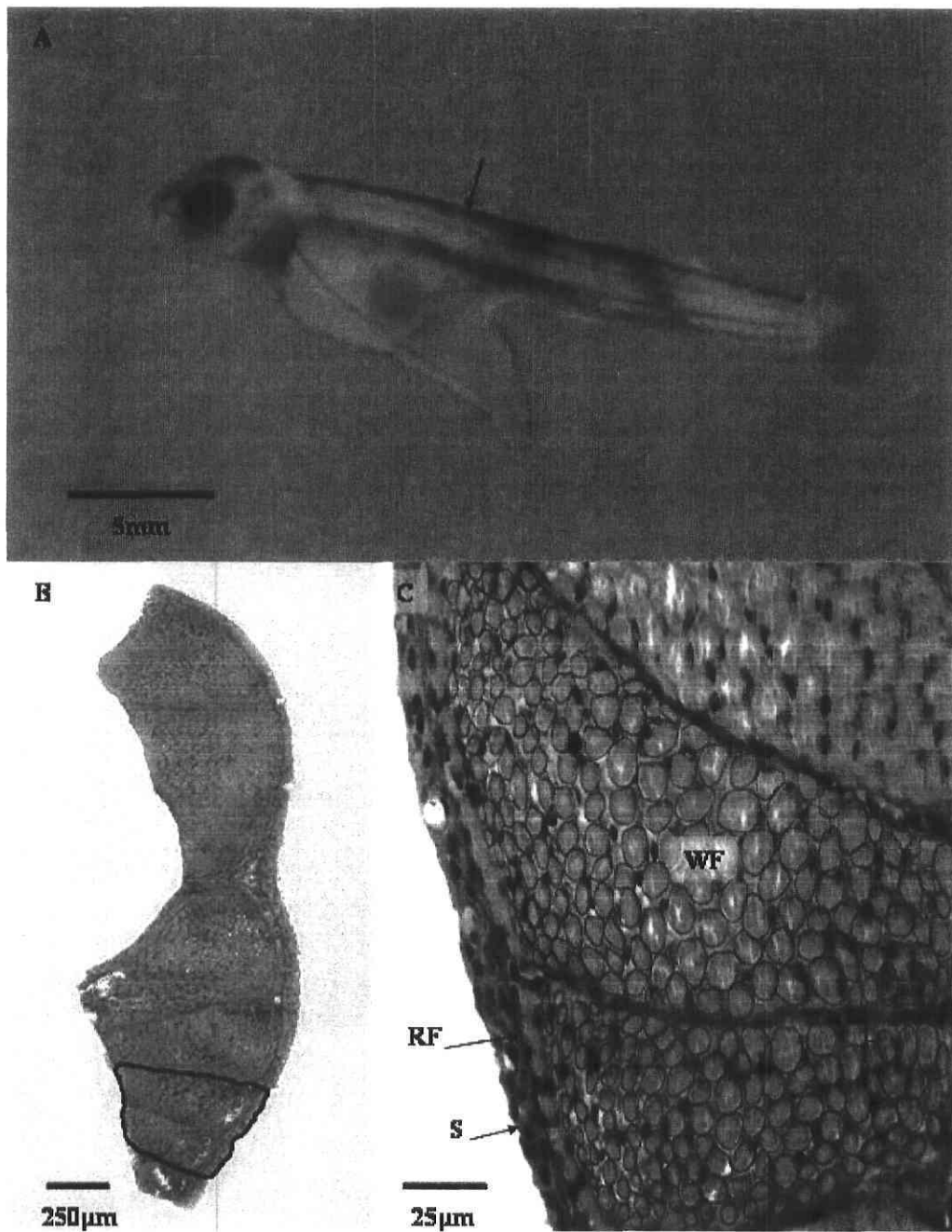


Fig. 2.1 Body location of cross section for muscle cellularity measurements (arrow) in Atlantic salmon alevins at hatch (A). Representative subsections sampled for the analysis of white fibers (traced areas) (B and C). Single layer of red fibers (RF) under the skin (S) and white fibers located deeper (WF). Cross sections were stained with haematoxylin-eosin.

Genetic analysis

Microsatellite polymorphism was analysed to determine both parental identity of alevins and reproductive success of males *a posteriori*. Parental DNA extraction was performed using methods described by Sambrook and Russel (2001). Alevin DNA, either from fins preserved in 95% ethanol or from frozen homogenates, was extracted using extraction microplates from Quiagen and a vacuum pump (BAC₉₆ Miniprep Kit, Millipore). We used three microsatellite loci specifically developed for *Salmo salar* and known to be highly polymorphic (Ssa171, Ssa197, O' Reilly et al. 1996 and SSOSL85, Slettan et al. 1995). Each PCR was carried out in a 15 µl reaction volume including 1 unit of *Taq* DNA polymerase, reaction buffer (200-mM Tris-HCl, pH = 8.8, 1% Triton X-100, 500-mM KCl), 1.5-mM MgCl₂, 0.2-mM dNTPs, 2 µl of total DNA previously extracted and primer concentrations ranging from 0.04 to 0.28-µM (*Ssa171* : 0.28-µM, *Ssa197* : 0.15-µM, *SSOLS85* : 0.04-µM). One of the primers for each locus was 5'-labelled either green (VIC) for Ssa171 and SSOSL85, or blue (6-FAM) for Ssa197. Multiplexed PCR (Touchgene Gradient Thermal Cycler, Techne) was used for Ssa171 and Ssa197 and performed as follows: an initial denaturing step of 3 min at 95 °C, followed by 35 cycles of 30 s at 94 °C, 30 s at 56 °C and 30 s at 72 °C. Allelic size was automatically determined (Genetic Analyser 3100, ABI) and analysed with the Genemapper software (version 3.7, ABI). Parental genotypes proved so different that it was easy to determine parental identity of alevins. These assignments were nevertheless double checked *a posteriori* using the PAPA software (version 2.0, Duchesne et al. 2002).

Data analysis

We used the mixed procedure of the SAS software (version 9.0, SAS Institute) and the statistical model used is presented in this section (model 1). Starting with this model, we tested the assumption that the random effect of “paternal identity” (component “ $a_{j(i)}$ ” in model 1) was equal to zero given that “the random part of a mixed linear model can be reduced in a sequence of likelihood ratio tests” (Bernier-Cardou and Bigras 2001). After this modeling, we found that the random component in model 1 was not significantly different from zero for each variable studied (p value < 0.15). That enabled us to use a reduced, more powerful model (model 2).

$$Y_{ijkl} = \mu + \{\tau_i + \delta_k + \tau\delta_{ik}\} + a_{j(i)} + \varepsilon_{l(ijk)} \quad (1)$$

$$Y_{ijkl} = \mu + \{\tau_i + \delta_k + \tau\delta_{ik}\} + \varepsilon_{l(ijk)} \quad (2)$$

Data varied according to the general mean “ μ ”, the fixed effect of maternal identity “ τ_i ”, the fixed effect of paternal reproductive tactic “ δ_k ”, the interaction between maternal identity and paternal reproductive tactic “ $\tau\delta_{ik}$ ”, the random effect of paternal identity “ $a_{j(i)}$ ” and the residual error of the model “ $\varepsilon_{l(ijk)}$ ”.

For mass specific enzymatic activity analysis in the caudal section, both *caudal* and *body weight* were taken into account in the model (covariables). *Caudal weight* was also considered for total enzymatic activity analysis in the caudal part. Whole body (both caudal and anterior sections) enzymatic activities were also analysed considering the effect of *body weight*. This allowed us to take into account the : (1) allometric relations between mass and mass specific enzymatic activity and, (2) potential bias created by differential dissections of alevins into caudal and anterior sections.

Results

Fertilisation success and anatomical parameters

Genetic identification of parentage of the alevins confirmed that fertilisation success differed markedly between mature parr, MP04 being the father of 78.0 % of offspring (table 2.1). A smaller difference was noted between MA01 and MA02, with MA01 showing higher success. These differences in fertilisation success occurred even though we used an equal volume of sperm for the two anadromous males.

Table 2.1 Weight of parent individuals and relative fertilization success of males

Parental identity	Wet weight	Fertilized eggs (%)
Mature parr 01 (MP01)	107.9 g	4.9
Mature parr 02 (MP02)	41.5 g	15.9
Mature parr 03 (MP03)	60.4 g	1.2
Mature parr 04 (MP04)	61.8 g	78.0
Anadromous male 01 (MA01)	1.95 kg	56.7
Anadromous male 02 (MA02)	1.8 kg	43.3
Female 01 (F01)	4.2 kg	-
Female 02 (F02)	3.8 kg	-

The mean values for anatomical parameters studied are indicated in table 2.2. Paternal reproductive tactic had no significant effect on offspring wet weight, length or protein content either at hatch or at MAWW (table 2.3). However, at both sampling periods, these parameters were strongly influenced by female identity. This maternal effect was particularly marked for alevin wet weight (including yolk) at hatch. Apparently, the first female (F01) provided more vitellus, facilitating offspring growth until MAWW. Not surprisingly, F01 was the larger female (table 2.1).

Table 2.2 Weight, length and protein content of offspring fathered by anadromous males and by mature parr and for both females. At hatch, n = 83 and at MAWW, n = 87. Values are mean \pm S. E.

	Females		Anadromous males progeny	Mature parr progeny
	FA01	FA02		
Wet weight at hatch including yolk (mg)	126 \pm 1	100 \pm 1	108 \pm 1	110 \pm 1
Wet weight at hatch excluding yolk (mg)	33.9 \pm 0.7	30.0 \pm 0.5	31.8 \pm 0.6	30.9 \pm 0.6
Wet weight at MAWW (mg)	155 \pm 2	133 \pm 2	142 \pm 2	146 \pm 2
Length at hatch (mm)	17.1 \pm 0.4	16.7 \pm 0.3	17.1 \pm 0.4	16.7 \pm 0.3
Length at MAWW (mm)	28.6 \pm 0.3	27.4 \pm 0.3	27.7 \pm 0.3	28.3 \pm 0.3
Protein content at hatch excluding yolk (mg)	2.7 \pm 0.1	2.4 \pm 0.1	2.5 \pm 0.1	2.5 \pm 0.1
Protein content at MAWW (mg)	18.3 \pm 0.4	14.1 \pm 0.4	16.1 \pm 0.4	16.4 \pm 0.4

Table 2.3 Results of statistical analysis of the effect of paternal reproductive tactic and of maternal identity on weight, length and protein content of offspring, n = 83 at hatch and n = 87 at MAWW.

Factor	df	F	p value	Differences (%)
Offspring wet weight at hatch including yolk				
Female identity (FI)	1	370.83	<0.0001	20.6
Paternal reproductive tactic (PT)	1	0.0056	0.94	-
FI × PT	1	0.73	0.39	-
Offspring wet weight at hatch excluding yolk				
Female identity (FI)	1	22.22	<0.0001	11.5
Paternal reproductive tactic (PT)	1	2.15	0.15	-
FI × PT	1	0.095	0.76	-
Offspring wet weight at MAWW				
Female identity (FI)	1	45.73	<0.0001	14.2
Paternal reproductive tactic (PT)	1	0.79	0.38	-
FI × PT	1	0.15	0.70	-
Offspring length at hatch				
Female identity (FI)	1	0.54	0.46	0
Paternal reproductive tactic (PT)	1	0.38	0.54	-
FI × PT	1	0.91	0.34	-
Offspring length at MAWW				
Female identity (FI)	1	7.50	0.0076	4.2
Paternal reproductive tactic (PT)	1	1.67	0.20	-
FI × PT	1	0.18	0.67	-
Offspring protein content at hatch excluding yolk				
Female identity (FI)	1	7.94	0.0061	11.1
Paternal reproductive tactic (PT)	1	0.078	0.78	-
FI × PT	1	0.049	0.83	-
Offspring protein content at MAWW				
Female identity (FI)	1	51.63	<0.0001	23.0
Paternal reproductive tactic (PT)	1	0.025	0.87	-
FI × PT	1	2.43	0.12	-

Enzymatic activity in the caudal section at hatch

At hatch, the total and mass specific activities of LDH in the caudal section were significantly higher in offspring fathered by the two anadromous males (figures 2.2A and 2.2B). This suggests higher anaerobic capacity and more advanced muscular development in the anadromous lineage. Though not consistently significant, we observed this tendency for almost all the enzymes in the caudal section at hatch.

Alevin size was heavily influenced by maternal identity (table 2.2), presumably through the influence of egg size. Most of the time, the significant impact of maternal identity on enzymatic activity was removed as weight was included as a covariable in the ANCOVAs.

Whole body enzymatic activity at hatch

When looking at both anterior and posterior sections of the body, the total and mass specific activities of CCO, CS and GDH were significantly higher in alevins from the anadromous lineage suggesting an increased aerobic potential and a better capacity to metabolise nitrogen (figures 2.3A and 2.3B).

Enzymatic activity in the caudal section at MAWW

At MAWW, similar patterns were apparent as at hatch. In the caudal section, total and mass specific activities of CS and LDH (figures 2.2C and 2.2D) suggested higher aerobic and anaerobic capacities, as well as an increased quantity of muscle in offspring of the anadromous males. CK activity, a direct indicator of muscle quantity and development, was also higher in offspring from the anadromous lineage. As at hatch, GDH activity suggested an increased capacity to metabolise nitrogen in alevins fathered by anadromous males. Finally, AChE activity was not influenced by paternal tactic, either at hatch or at MAWW.

Whole body enzymatic activity at MAWW

Whole body enzymatic activities generally confirmed the higher aerobic capacity and a better capacity for nitrogen excretion in progeny of the anadromous males (figures 2.3C and 2.3D). However, whole body and mass specific CCO activities were no longer significantly influenced by paternal tactic at MAWW.

Voluntary swimming activity at MAWW

Voluntary swimming at MAWW was higher in progeny from the mature parr lineage (figure 2.2C, see insert). The percentage of time spent swimming during 15 min was significantly higher in offspring fathered by mature parr than in those from anadromous fathers. Almost all swimming sequences were characterised by short, but very fast and abrupt, movements (personal observations).

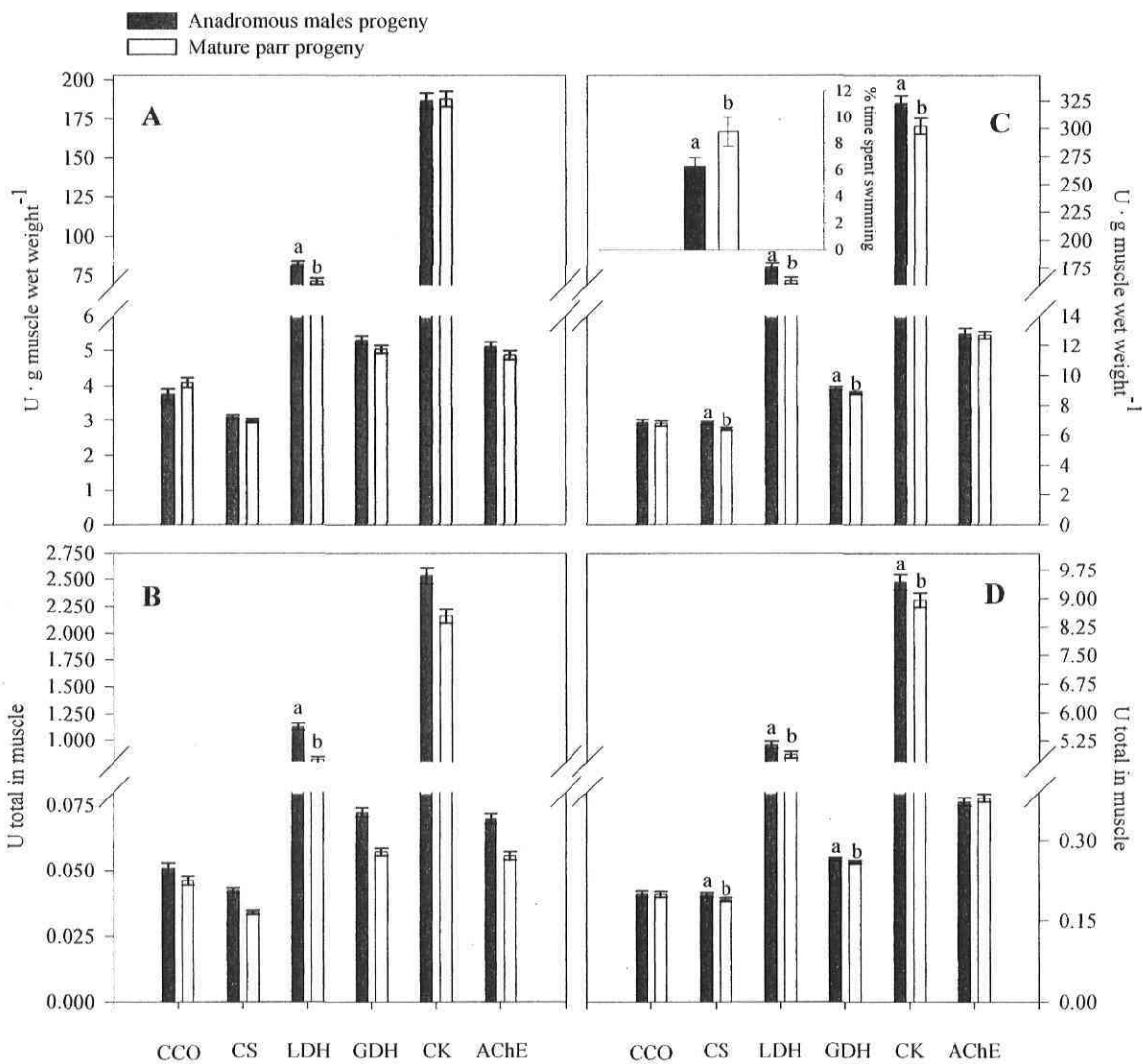


Fig. 2.2 Effect of paternal reproductive tactics on voluntary swimming activity (C, see insert) and on enzymatic profiles of offspring (caudal section). At hatch (A and B), $n = 83$ and at MAWW (C and D), $n = 87$. Values are mean \pm S. E. and are expressed in international units ($\mu\text{mole product min}^{-1}$). Significant differences are indicated by the columns for a given enzyme having different letters ($p < 0.05$).

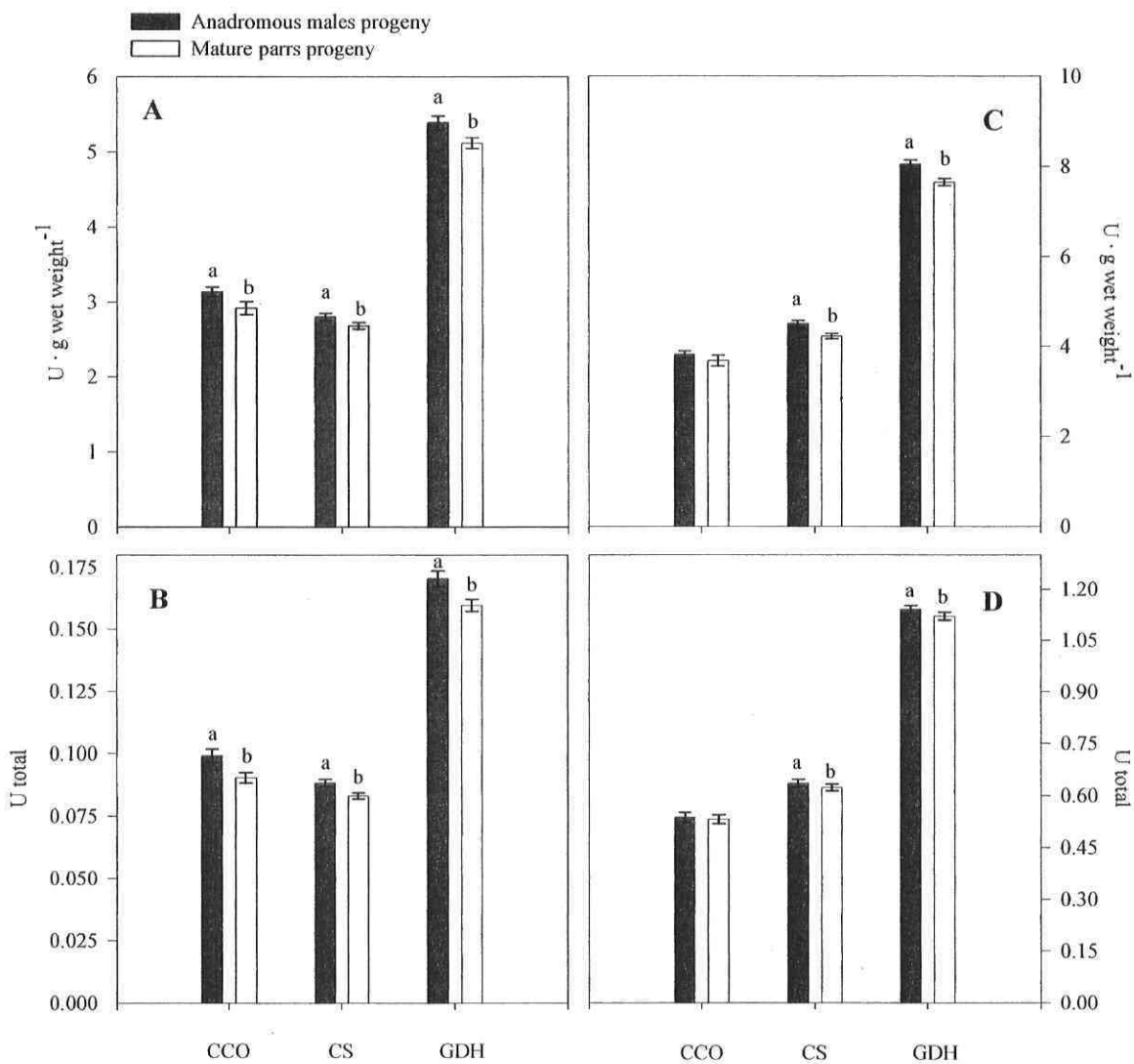


Fig. 2.3 Effect of paternal reproductive tactics on enzymatic profiles of offspring (combined activities of caudal and anterior sections). At hatch (A and B), $n = 83$ and at MAWW (C and D), $n = 87$. Values are mean \pm S. E. and are expressed in international units ($\mu\text{mole product min}^{-1}$). Significant differences are indicated by the columns for a given enzyme having different letters ($p < 0.05$).

Muscle development and cellularity at hatch

The total cross sectional area of white muscle was higher in offspring from anadromous males ($p = 0.016$, figure 2.4). This was true particularly for those fathered by MA01. The total cross sectional area of red muscle was also higher in alevins fathered by anadromous males ($p = 0.020$). These results may be partly explained by a higher number of large fibers in offspring of anadromous males. Overall, the size distribution of white fibers was very similar between the two broodlines (figure 2.5). However, the progeny of MP04 had a lower frequency of white fibers between 10 and 12 μm in diameter than offspring of anadromous males when offspring of MP02 were removed from the analysis. Large red fibers with diameters varying from 11 to 14 μm were more frequent in offspring fathered by anadromous males than in other alevins ($p < 0.05$, figure 2.6), while small red fibers with diameters between 3 and 4 μm were more frequent in the mature parr lineage ($p = 0.05$). Total area of white and red muscle were moderately correlated with mean diameter of their constituent fibers in alevins fathered by anadromous males (figures 2.7 and 2.8), but not at all in progeny of mature parr. Also, regardless of size distribution, mean cross sectional area of red fibers tended to be higher in alevins fathered by anadromous males ($48.8 \pm 2 \mu\text{m}^2$ vs $43.4 \pm 2 \mu\text{m}^2$, $p = 0.06$). For offspring of mature parr, increased total cross sectional area of red muscle was correlated with an increase in red fiber number (figure 2.9). However, neither broodline showed a significant correlation between total area of white muscle and white fiber number. The latter was estimated assuming that the sampled sub-sections were representative of the entire cross section (in terms of fiber number and size) whereas the number of red fibers comes from a complete census. Thus, the number of red fibers is less subject to enumeration errors. Finally, there was a tendency toward increased fiber density in alevins fathered by mature parr ($8643 \pm 522 \text{ fiber} \cdot \text{mm}^{-2-1}$ vs $9903 \pm 522 \text{ fiber} \cdot \text{mm}^{-2-1}$, $p = 0.096$).

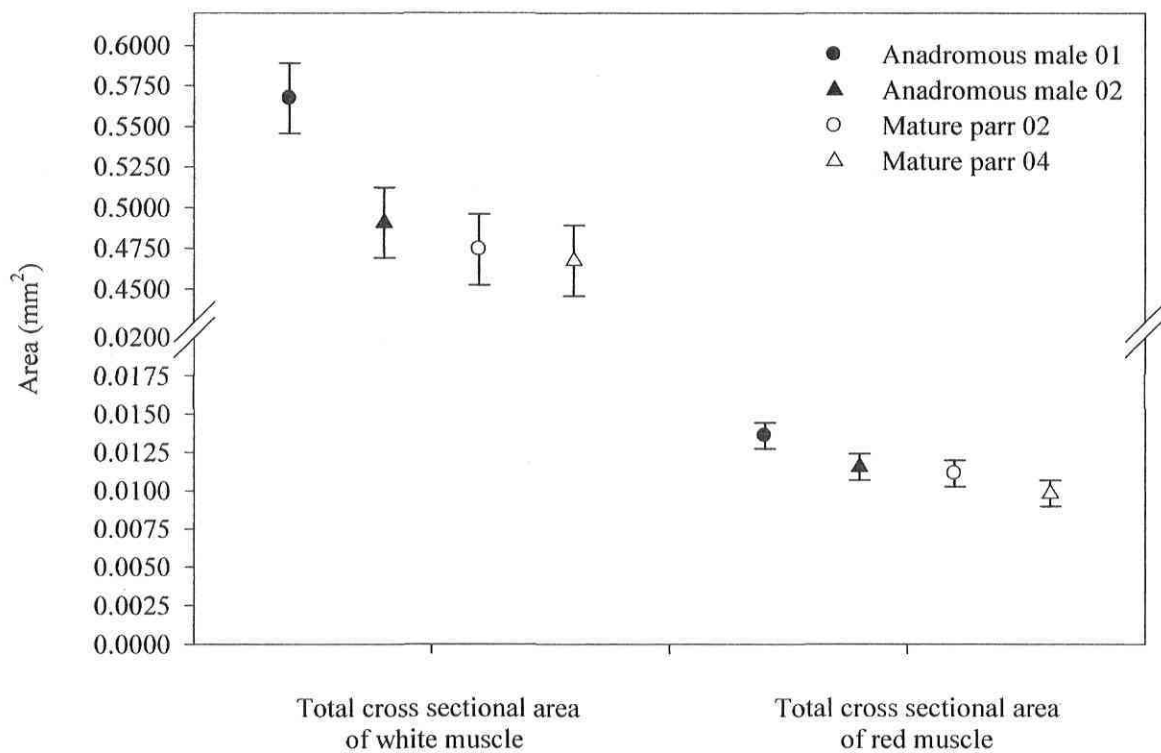


Fig. 2.4 Total cross sectional area of red and white muscles of offspring at hatch. Values are means \pm S. E., $n = 10$ for each group.

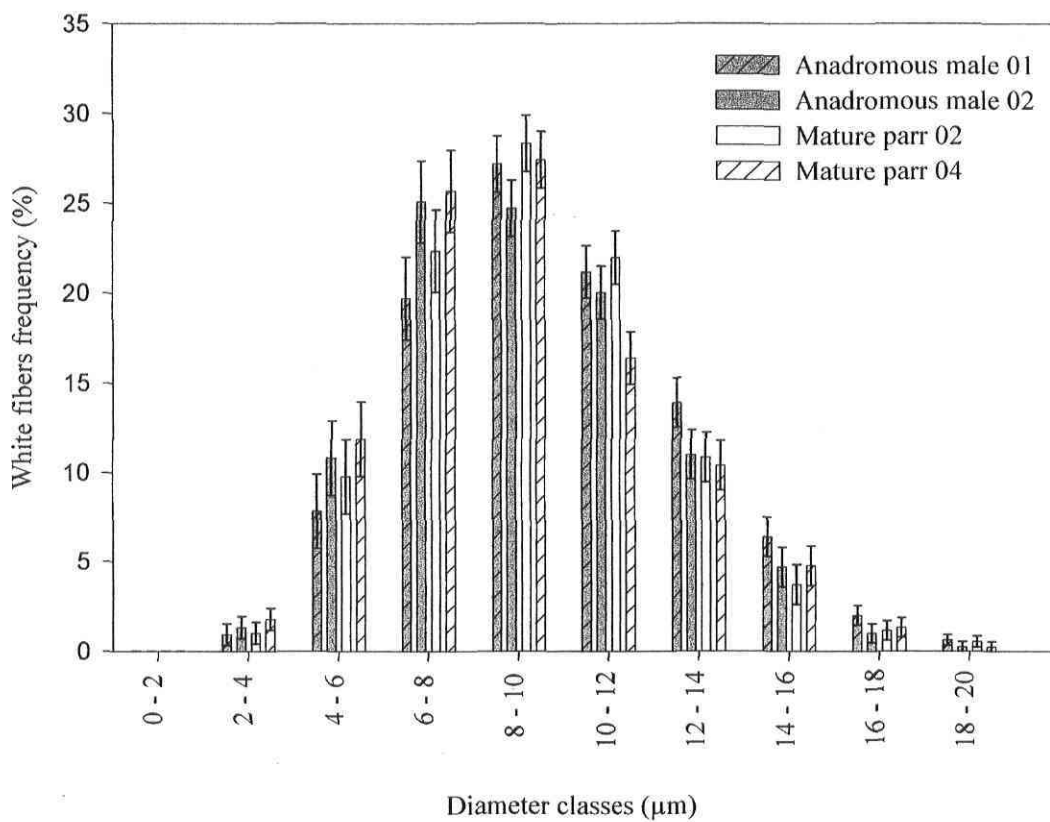


Fig. 2.5 Frequency distribution of white fiber diameters of offspring at hatch. Values are means \pm S. E., $n = 10$ for each group.

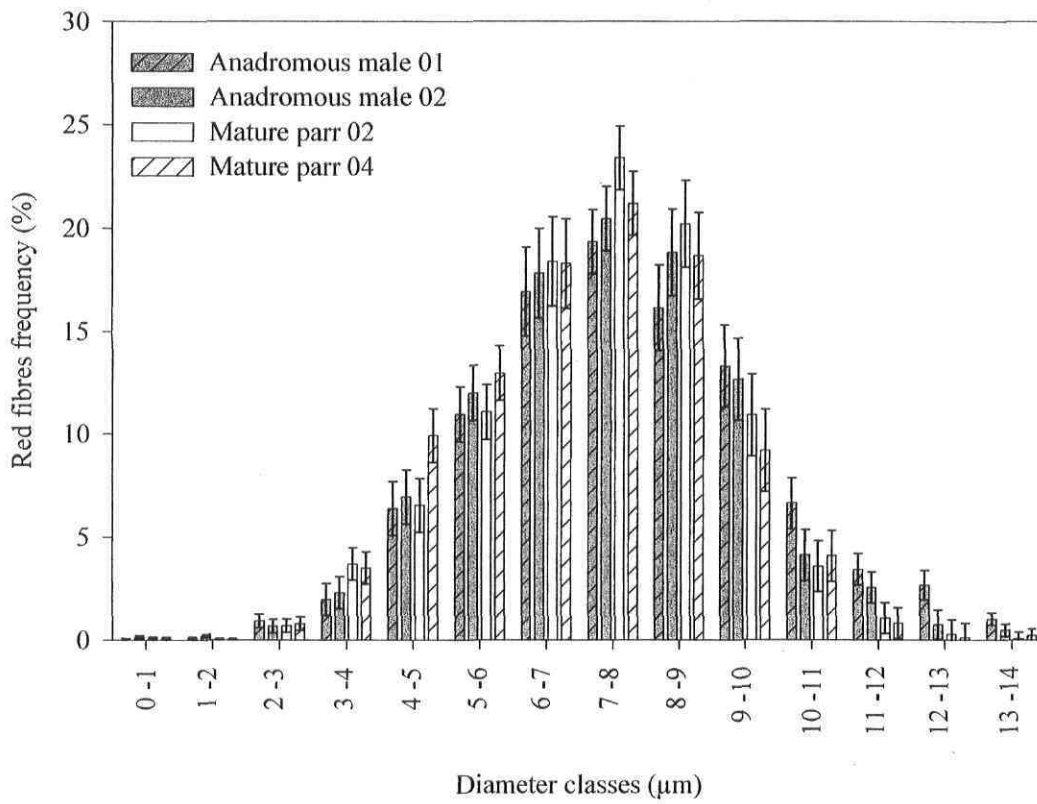


Fig. 2.6 Frequency distribution of red fiber diameters of offspring at hatch. Values are means \pm S. E., $n = 10$ for each group.

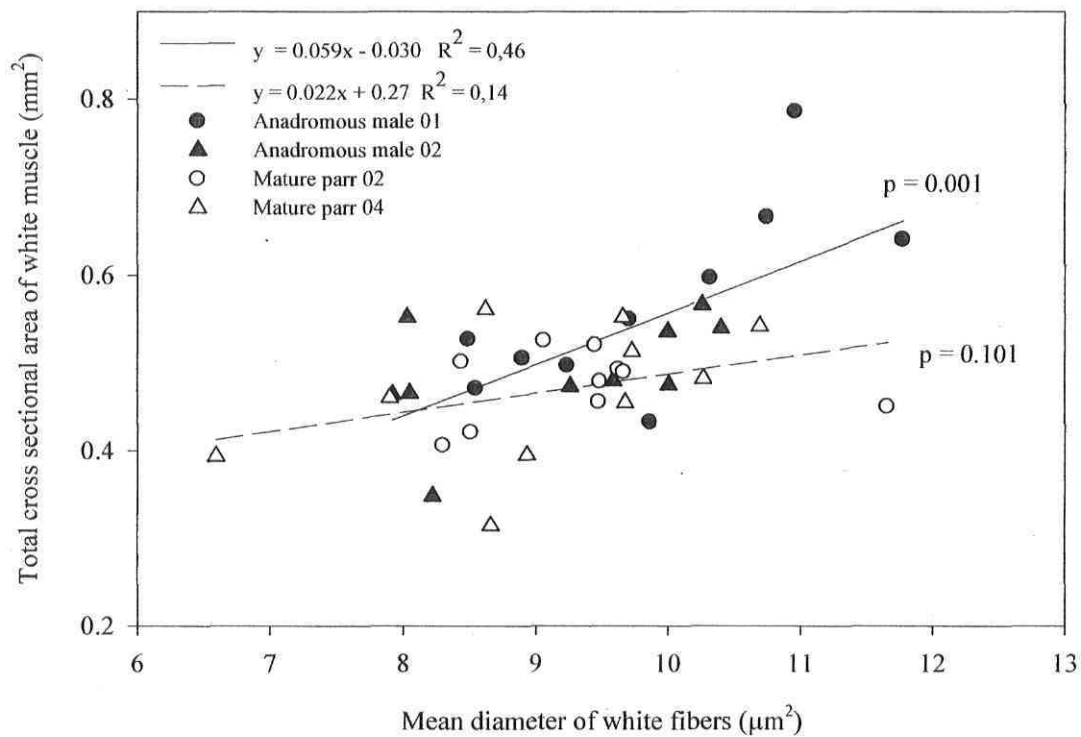


Fig. 2.7 Total cross sectional area of white muscle versus mean white fiber diameter of offspring at hatch.

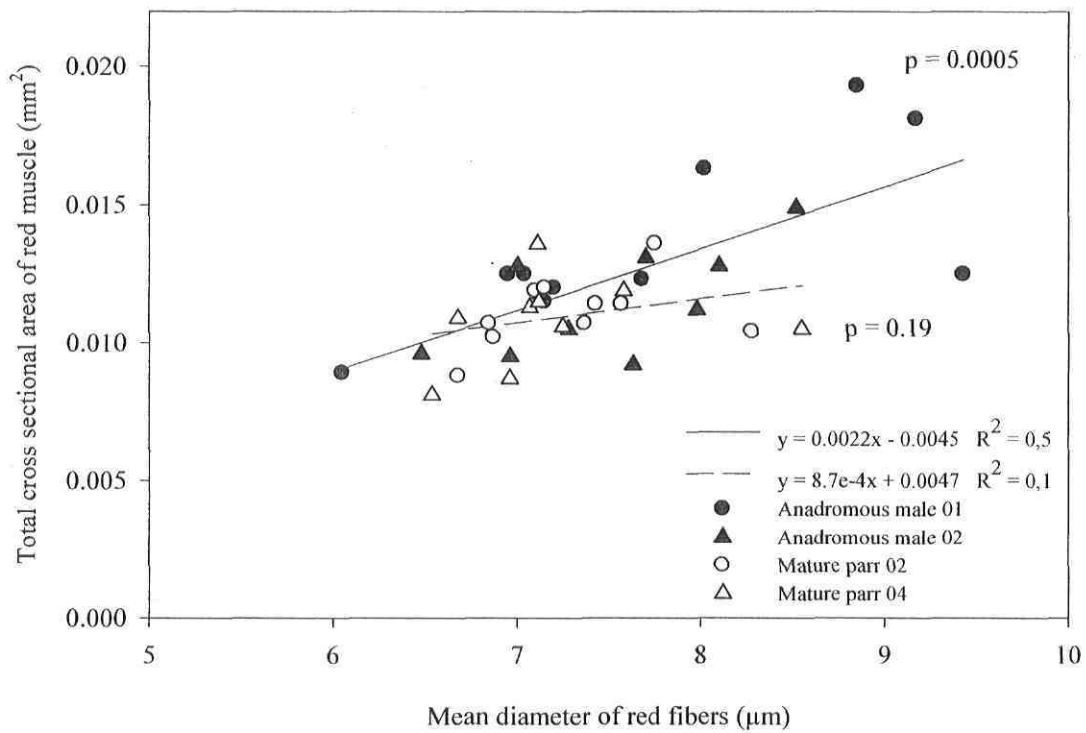


Fig. 2.8 Total cross sectional area of red muscle versus mean red fiber diameter of offspring at hatch.

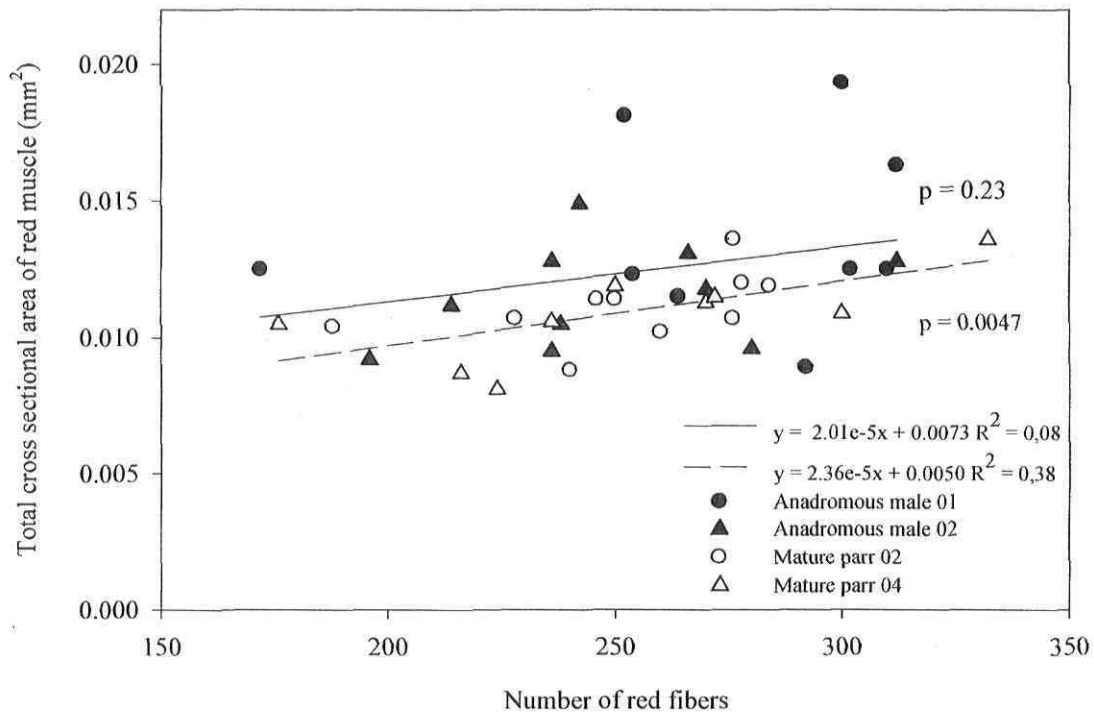


Fig. 2.9 Total cross sectional area of red muscle versus number of red fibers at hatch.

Discussion

In light of the evidence for accelerated growth in offspring of mature parr, our study examined the influence of paternal reproductive tactics on metabolic capacities and muscle cellularity in Atlantic salmon alevins at hatch and at maximal attainable wet weight (MAWW). To this end, we compared the offspring obtained by crossing eggs from two females with sperm from two anadromous males and four mature parr. Presumably due to sperm competition within the two paternal broodlines, an unequal fertilisation success reduced the number of mature parr actually represented in the offspring to two (table 2.1).

A parr's "choice" to become sexually mature may be influenced by the father's reproductive tactic (Glebe and Saunders 1986) and the influence of paternal genotype on offspring growth can be expressed early during ontogeny (Garant et al. 2002). Moreover, individuals showing a faster growth rate will be more likely to reach the decisional threshold in the first spring following hatch and to become sexually mature (Aubin-Horth and Dodson 2004, Berglund 1992, Rowe and Thorpe 1990, Whalen and Parrish 1999). Biotic and abiotic environments also play an important role in determining growth rates in young fish (Aubin Horth et al. 2005). Thus the decision of parr to become sexually mature in fresh water is likely to show an interaction between the genotype and the environment. In this study, carried out in a controlled laboratory environment, we did not find any significant difference in the weight, length or protein contents between the progeny of anadromous males and mature male parr at hatch and at MAWW (tables 2.2 and 2.3). This held true even when considering solely offspring fathered by the more successful parr (MP04). As in other studies, female identity had a major influence on all anatomical parameters (see Thorpe 1987). Offspring of the larger female (F01) had higher reserves at hatch and considerably better growth opportunities until MAWW. Using otoliths to assess growth during the yolk resorption period, Garant et al. (2002) found that alevins fathered by mature parr in their natural environment had a higher growth rate than those fathered by anadromous males. In a second series of experiments with artificially bred progeny and using size as a measure of individual growth, these authors did not succeed in finding an effect of paternal reproductive tactics on growth between hatch and MAWW. Only when

focussing upon the progeny of the most successful mature male parr, was a difference apparent. They ascribe these results to an over-representation of potentially subordinate mature parr that would have had only limited success in nature. Obviously, such a bias may be apparent in our results, since the selection of males was arbitrary. However, having allowed sperm competition between four mature parrs should have helped eliminate this effect. Further, retrocalculation of growth (as in Garant et al. 2002, experiment 1) in populations of individuals that have been subjected to size selective mortality (Aubin Horth et al. 2005, Good et al. 2001, Meekan et al. 1998) may provide a biased signal. In this context, Garant et al. (2002) may have over-estimated the size of the alevins fathered by mature parr in their first experiment with naturally bred progeny. In the light of our results, it seems that paternal reproductive tactics had a limited effect on the size of alevins between hatch and MAWW.

Enzymatic activity in fish muscle may vary according to size and growth rates (Childress and Somero 1990, Guderley et al. 2001, Nathanailides and Stickland 1996, Pelletier et al. 1993), parental genome (Garenc et al. 1998), swimming capacities (Guderley et al. 2001, Garenc et al. 1998, 1999), condition (Guderley et al. 2001, Pelletier et al. 1993), season (Pelletier et al. 1993) and may be influenced by temperature (Guderley and Gawlicka 1992, Guderley et al. 2001, Johnston et al. 2001) and oxygen concentration (Matschak et al. 1998) during ontogeny. Given the distribution of enzymes among organs, we used mainly CK, but also LDH, CS and CCO, to assess the quantitative importance of white and red muscles in the caudal section of alevins. Whereas CCO and CS activities are indicators of aerobic metabolism (oxidative phosphorylation and Krebs cycle), LDH activity gives insights into the animal's glycolytic capacity. We used GDH as a proxy for the capacity for nitrogen excretion (Berges et al. 1993, Bidigare and King 1981, Pelletier et al. 1993, Singer and Ballantyne 1991) and AChE activity to assess the development of the neuromuscular system (Johnston et al. 2001). Our results indicated that alevins fathered by anadromous males had higher aerobic (CCO and CS), anaerobic (LDH) and excretory (GDH) capacities as well as higher muscular development (CK, CCO, CS and LDH activities in the caudal section) during the yolk resorption period (figures 2.2 and 2.3). The only exception was that neuromuscular development (as indicated by AChE activity) did not differ between the two

broodlines for the two sampling periods. In order to assess the possibility that the general pattern observed came from an unequal hydration degree between the two progeny, we also examined protein specific enzymatic activities (results not shown). Globally, we observed the same tendencies as with the mass specific and total enzymatic activities. It is useful to underline that enzymatic activities only indicate the maximum *in vitro* metabolic capacities. The differences between the two broodlines may represent the consequence of energetic compromises during ontogenetic development. On the contrary, metabolic rates and voluntary swimming activity of alevins represent the real utilization of this potential and the short-term manifestation of metabolic choices.

Alevins fathered by the anadromous males showed more advanced muscular development at hatch. Precisely, total cross sectional areas of white and red muscles were larger in alevins from the anadromous lineage (figure 2.4). Higher enzymatic activity (CK, CCO, CS and LDH) in the caudal section of these alevins support these observations. Those higher muscular areas could be explained by the presence of large fibers particularly in red muscle (see results and figures 2.5 to 2.8). Moreover, in the progeny of mature parr, increased total cross sectional area of red muscle was positively correlated with the total number of red fibers (figure 2.9) and we also observed a tendency toward an higher density of white fibers for this lineage. In Atlantic salmon (Johnston and McLay 1997, Johnston et al. 2000, Higgins and Thorpe 1990) and in rainbow trout (Valente et al. 1999, Weatherley et al. 1980) faster growth is associated with a higher recruitment rate of new, less differentiated muscle cells (hyperplasia). Small muscle fibers are supposed to grow faster because of their capacity to assimilate nutrients more effectively by diffusion (high surface-volume ratio) than large fibers. Thus to some extent, a marked recruitment of small fibers may indicate higher investment in future growth (Weatherley 1990). Consequently, it is possible that the bioenergetic strategy of alevins fathered by mature parr does not accentuate muscular growth during yolk resorption, but nonetheless favors a better growth following first feeding.

The constraints on metabolic and muscular development in progeny of mature male parr may reflect accelerated metabolic rates of these alevins. Mature male parr show higher

metabolic rates (related to swimming activity), food ingestion and growth rates, but lower growth efficiencies than non mature parr (Tucker and Rasmussen 1999). The higher metabolic costs are thought to reflect the occupation of more demanding, high velocity habitats. This expensive life-style, combined with the investment in gamete production at the time of sexual maturation, could lead to the strong mortality of mature compared to immature parr (Myers 1984). In light of our results, we suspect that this metabolic strategy is already apparent during the yolk resorption period. Thus, we found higher oxygen uptake and nitrogen excretion rates in alevins fathered by mature parr (Guderley et al. in preparation). Here we show that offspring of mature parr showed higher voluntary swimming activity than alevins of the anadromous lineage (figure 2.2C, see insert). Higher swimming activity could allow these fish to quickly and effectively exploit exogenous food resources after yolk resorption. Moreover, these alevins could quickly become dominant, occupy more productive river habitats where food acquisition, while costly in terms of swimming requirements, is facilitated. Consequently, progeny of mature parr would be more likely to grow faster and to mature early after first feeding (Metcalf et al. 1995). However, a strategy depending on higher energy output to facilitate food acquisition may involve high risk of mortality if first feeding occurs in an unfavorable environment.

To remain effective, such energy compromises should not drastically affect growth during the yolk resorption period. This could explain why it is difficult to observe major size differences between alevins from the two paternal tactics during the yolk resorption period. It is not surprising however to observe subtle impacts on the physiology of alevins (metabolic capacities and muscular growth) entirely dependant on endogenous food reserves. The tight energy budget of fish larvae imposes constraints impossible to easily circumvent (subject reviewed by Wieser 1991, 1994, 1995). Firstly, a basic metabolic rate (BMR) is typically very high in small fishes and considerably reduces the aerobic scope of these animals. Moreover, swimming and growth costs are maximal during the larval phase. So from an energy point of view, the choices offered to small fish (particularly to those depending on endogenous food reserves) are very few. One of these theoretical choices is to support somatic growth by suppressing other energy consuming functions. The fact that growth rate and metabolic intensity (mass specific oxygen uptake) are not correlated in the

long run would be an argument favouring the existence of such energy reallocation for growth in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) (Rombough 1994) and in larval cyprinids (*Rutilus rutilus* and *Chalcalburnus chalcoides mento*) (Wieser et al. 1988). In this study, it is also possible that the observed physiological differences between the two broodlines are more influenced by decreased energy utilization efficiency in alevins fathered by mature parr rather than by energy reallocation between growth and metabolic intensity. Wieser (1994) pointed out that: “both allocation of energy and efficiency of utilization may be sufficiently variable for selection to act on them and to produce different types of adaptative life-styles.”

Few studies have examined the influence of conditional male reproductive strategies on the physiological characteristics of their offspring. Our work has examined this question during the critical life stage of endogenous feeding where physiological processes take place in a “closed” system and where energy strategies may modify growth and other functions. We showed that the paternal conditional strategy does not drastically change somatic growth between hatch and MAWW. However, all parameters studied (metabolic potential and muscle growth) suggested greater development of muscle by offspring of anadromous males during this period. Only the enhanced swimming activity by progeny of mature male parr provided a mechanism whereby future growth of these fish could be favoured. We thus suggest that a different strategy related to food acquisition and energy allocation may be expressed between alevins fathered by anadromous males and by mature parr. Among alevins fathered by mature parr, heightened activity at emergence would allow the fast growth often observed after the initiation of exogenous feeding of parr destined to mature early in life. However, such a strategy would impose measurable physiological consequences during the yolk-sac stage, reflected as decreased efficiency in energy utilisation.

CHAPITRE 3

CONCLUSION GÉNÉRALE

Nous avons, dans les sections précédentes, présenté comment la tactique de reproduction paternelle influence les caractéristiques physiologiques des rejetons chez le saumon Atlantique. Nous avons basé cet objectif général sur l'observation unanime d'une croissance accélérée chez les tacons appelés à devenir sexuellement matures (Aubin-Horth et Dodson 2004, Berglund 1992, Rowe et Thorpe 1990, Whalen et Parrish 1999) et avons tenté de vérifier que cet avantage de croissance est déjà présent (Garant et al. 2002) et affecte déjà la physiologie des alevins issus de tacons matures pendant la période où ceux-ci sont complètement dépendants des ressources alimentaires endogènes fournies par la mère. La conduite de l'ensemble des expérimentations dans un milieu contrôlé et identique pour les deux lignées paternelles, nous a permis d'isoler l'effet génétique véritablement relié aux tactiques de reproduction de l'effet relié à l'environnement externe.

Le premier objectif de cette étude était donc de vérifier directement l'impact des deux tactiques de reproduction des mâles sur différents paramètres anatomiques facilement mesurables chez la progéniture. À ce titre, nos expériences n'ont pas permis de démontrer un avantage de croissance chez les rejetons issus de tacons matures. Après analyse de la masse, de la longueur et de la quantité de protéines corporelles, nos expériences n'ont relevé aucun avantage chez les alevins issus de tacons matures comparativement à ceux provenant de mâles anadromes.

Le second objectif de l'étude était de vérifier l'hypothèse d'une croissance accélérée dans la descendance des tacons matures par l'examen des capacités métaboliques de celle-ci. Concernant cet objectif, il semblait important de dissocier le potentiel métabolique global des alevins (influencé en grande partie par les organes vitaux majeurs) du potentiel métabolique dans une section essentiellement composée de muscles. Pour ce faire, nous avons tout d'abord étudié l'activité de six enzymes dans la section caudale des alevins : la cytochrome C oxydase (CCO), la citrate synthase (CS), la lactate déshydrogénase (LDH), la créatine kinase (CK), l'acétylcholine estérase (AChE) et la glutamate déshydrogénase (GDH). Nos expérimentations ont démontré qu'à aucun moment, l'activité enzymatique des alevins issus de tacons matures ne fut supérieure à celle des alevins issus de mâles anadromes. Cette conclusion générale demeure vérifiée par l'étude de l'activité de la CCO,

de la CS et de la GDH dans l'ensemble du corps des alevins (sections caudale et antérieure sommées). Nos expérimentations ont permis de conclure que les alevins issus de mâles anadromes possèdent : 1) une capacité aérobie, 2) anaérobie et 3) excrétoire (déchets azotés) plus élevées, ainsi qu'un développement musculaire probablement plus avancé que les rejetons de tacons matures entre l'éclosion et l'atteinte d'une masse humide maximale (MHM). L'examen plus approfondit de la surface et du cellularisme musculaires ont permis de confirmer ces observations.

Le troisième objectif consistait donc à effectuer l'examen histologique direct de la croissance musculaire. En accord avec les résultats concernant l'activité enzymatique, nous avons démontré que les alevins issus de mâles anadromes avaient une surface musculaire (muscles rouge et blanc) plus étendue. De plus, à la lumière de plusieurs indices structuraux, nous proposons que cette augmentation de la surface musculaire fut due à un plus grand diamètre des fibres constituant les deux types musculaires dans la lignée anadrome. Il est intéressant de noter également que la progéniture de tacons matures démontrait une tendance vers une densité de fibres musculaires plus grande (8643 ± 522 fibre \cdot mm⁻² vs 9903 ± 522 fibre \cdot mm⁻², $p = 0.10$). La présence de petites fibres densément distribuées peut être considérée comme avantageuse pour la croissance future puisqu'une petite fibre a la capacité d'assimiler les nutriments rapidement (faible ratio surface-volume). De plus, une hyperplasie cellulaire importante (augmentation du nombre de nouvelles cellules de petite taille et peu différenciées) a souvent été associée à une croissance rapide chez le saumon Atlantique (Johnston et McLay 1997, Johnston et al. 2000, Higgins et Thorpe 1990).

Le dernier objectif de cette étude consistait à quantifier l'activité de nage volontaire des alevins issus des deux tactiques de reproduction paternelles de façon quantitative. La mesure de l'activité de nage volontaire devait nous permettre de compléter en partie les résultats obtenus dans notre laboratoire (Guderley et al. en préparation) concernant le taux métabolique des rejetons issus des deux tactiques paternelles. À ce titre, nous avons mesuré des taux de consommation d'oxygène et des taux d'excrétion d'azote supérieurs chez les alevins issus de tacons matures entre l'éclosion et l'émergence. De façon générale,

nous avons pu conclure à la suite de ces observations, que les alevins issus de tacons matures démontrent des dépenses énergétiques plus importantes dans des conditions expérimentales contrôlées. Dans la présente étude, nous avons déterminé que les alevins issus de tacons matures passent relativement plus de temps en activité de nage volontaire dans des conditions de manipulation identiques (9.3 vs $6.2 \pm 1\%$ du temps passé en activité de nage, $p = 0.03$). Comme durant la période de résorption du vitellus, les alevins de saumon Atlantique sont complètement dépendants des réserves alimentaires endogènes fournies par la mère et de surcroît, enfouis dans le gravier, l'augmentation des dépenses énergétiques ne peut en aucun cas favoriser la prise alimentaire par prédation. Nous suggérons que des dépenses métaboliques ainsi augmentées peuvent potentiellement favoriser la croissance somatique à partir de la première alimentation autonome, mais dénotent aussi une inefficacité énergétique pendant la période critique de résorption du vitellus. À la lumière de leurs résultats, Tucker et Rasmussen (1999) proposent que les tacons destinés à devenir sexuellement matures connaissent des taux d'ingestion de nourriture et de croissance plus élevés, mais une efficacité de croissance plus faible comparativement aux tacons immatures.

Nous proposons que des stratégies énergétiques distinctes, présentes chez les mâles employant des tactiques de reproduction différentes, sont déjà exprimées chez leurs rejetons entre l'éclosion et l'émergence. Cependant, ces stratégies distinctes entraîneraient des impacts totalement différents pendant cette période critique du développement. Nos résultats sur les capacités métaboliques et le développement musculaire sont en partie, le reflet de ces impacts.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alami-Durante, H., and Rescan, P. Y. 2003. Typologie et ontogenèse des fibres musculaires chez les poissons. *INRA Prod. Anim.* **16**(2): 145-155.

Alonzo, S. H., and Sinervo, B. 2001. Mate choice games, context-dependant good genes, and genetics cycles in the side-blotched lizard, *Uta stansburiana*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **49**: 176-186.

Atlantic Salmon Federation. 2003. Annual report. Available from <http://www.asf.ca>.

Atlantic Salmon Federation. 2004. Status of North American Wild Atlantic Salmon. Available from <http://www.asf.ca>.

Aubin-Horth, N., and Dodson, J. J. 2004. Influence of individual body size and variable threshold on the incidence of a sneaker male reproductive tactic in Atlantic salmon. *Evolution.* **58**(1): 136-144.

Aubin-Horth, N., Ryan, D. A. J., Good, S. P., and Dodson, J. J. 2005. Balancing selection on size: effects on the incidence of an alternative reproductive tactic. *Evol. Ecol. Res.* **7**: 1-12.

Badyaev, A. V., and Hill, G. E. 2002. Paternal care as a conditional strategy: distinct reproductive tactics associated with elaboration of plumage ornamentation in the house finch. *Behav. Ecol.* **13**(5): 591-597.

Berges, J. A., Roff, J. C., and Ballantyne, J. S. 1993. Enzymatic indices of respiration and ammonia excretion: relationships to body size and food levels. *J. Plankton Res.* **15**(2): 239-254.

Berglund, I. 1992. Growth and early sexual maturation in Baltic salmon (*Salmo salar*) parr. *Can. J. Zool.* **70**: 205-211.

Bernatchez, L., and Giroux M. Les poissons d'eau douce du Québec et leur répartition dans l'est du Canada. Broquet, Boucherville, Qc.

Bernier-Cardou, M., and Bigras, F. J. 2001. The analysis of cold hardiness experiments. *In* Conifer cold hardiness. *Edited by* F. J. Bigras and S. J. Colombo. Kluwer Academic, Netherlands. pp. 403-435.

Bidigare, R. R., and King, F. D. 1981. The measurement of glutamate dehydrogenase activity in *Praunus flexuosus* and its role in the regulation of ammonium excretion. *Comp. Biochem. Phys. B.* **70**: 409-413.

Bjornevik, M., Beattie, C., Hansen, T., and Kiessling, A. 2003. Muscle growth in juvenile Atlantic salmon as influenced by temperature in the egg and yolk sac stages and diet protein level. *J. Fish Biol.* **62**: 1159-1175.

- Bone, Q. 1978. Locomotor muscle. *In Fish Physiology*, vol. 7. *Edited by* W. S. Hoar and D. J. Randall. Academic Press, New York. pp. 361-424.
- Brockmann, H. J. 2001. An experimental approach to altering mating tactics in male horseshoe crabs (*Limulus polyphemus*). *Behav. Ecol.* **13**(2): 232-238.
- Childress, J. J., and Somero, G. N. 1990. Metabolic scaling: a new perspective based on scaling of glycolytic enzymes activities. *Am. Zool.* **30**: 161-173.
- Cook, J. M., Compton, S. G., Herre, E. A., and West, S. A. 1997. Alternative mating tactics and extreme male dimorphism in fig wasps. *P. Roy. Soc. Lond. B. Bio.* **264**: 747-754.
- Duchesne, P., Godbout, M.-H., and Bernatchez, L. 2002. PAPA (package for the analysis of parental allocation): a computer program for simulated and real parental allocation. *Mol. Ecol. Notes.* **2**: 191-193.
- Emlen, D. J. 1997. Alternative reproductive tactics and male-dimorphism in the horned beetle *Onthophagus acuminatus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* **41**: 335-341.
- Fauconneau, B., and Paboeuf, G. 2001. Muscle satellite cells in fish. *In Fish Physiology - Muscle Development and Growth. Edited by* I. A. Johnston. Academic Press, San Diego. pp.73 -102.
- Fleming, I. A., and Petersson, E. 2001. The ability of released, hatchery salmonids to breed and contribute to the natural productivity of wild populations. *Nord. J. Freshw. Res.* **75**: 71-98.
- Flemming, I. A. 1996. Reproductive strategies of Atlantic salmon: ecology and evolution. *Rev. Fish. Biol. Fisher.* **6**: 379-416.
- Forstner, H., and Wieser, W. 1990. Pattern of routine swimming and metabolic rate in juvenile cyprinids at three temperatures: analysis with a respirometer-activity-monitoring system. *J. Comp. Physiol. B.* **160**: 71-76.
- Frankino, W. A., and Juliano, S. A. 1999. Costs of reproduction and geographic variation in the reproductive tactics of the mosquito *Aedes triseriatus*. *Oecologia.* **120**: 59-68.
- Fu, P., Neff, B. D., and Gross, M. R. 2001. Tactic-specific success in sperm competition. *P. Roy. Soc. Lond. B. Bio.* **268**: 1105-1112.
- Garant, D., Fontaine, P.-M., Good, S. P., Dodson, J. J., and Bernatchez, L. 2002. The influence of male parental identity on growth and survival of offspring in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Evol. Ecol. Res.* **4**: 537-549.

- Garant, D., Dodson, J. J., and Bernatchez, L. 2003a. Differential reproductive success and heritability of alternative reproductive tactics in wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Evolution*. **57**(5): 1133-1141.
- Garant, D., Fleming, I. A., Einum, S., and Bernatchez, L. 2003b. Alternative male life-history tactics as potential vehicles for speeding introgression of farm salmon traits into wild populations. *Ecol. Lett.* **6**: 541-549.
- Garenc, C., Silversides, F. G., and Guderley, H. 1998. Burst swimming and its enzymatic correlates in the threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*): full-sib heritabilities. *Can. J. Zool.* **76**: 680-688.
- Garenc, C., Couture, P., Laflamme, M.-A., and Guderley, H. 1999. Metabolic correlates of burst swimming capacity of juvenile and adult threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *J. Comp. Physiol. B.* **169**: 113-122.
- Gisbert, E., Cech, J. J., and Doroshov, S. I. 2001. Routine metabolism of larval green sturgeon (*Acipenser medirostris* Ayres). *Fish Physiol. Biochem.* **25**: 195-200.
- Glebe, B. D., and Saunders, R. L. 1986 Genetic factors in sexual maturity of cultured Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr and adults reared in sea cages. *Can. Spec. Pub. Fish. Aquat. Sci.* **89**: 24-89.
- Good, S. P., Dodson, J. J., Meekan, M. G., and Ryan, D. A. J. 2001. Annual variation in size-selective mortality of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **58**: 1187-1195.
- Goolish, E. M., and Adelman, I. R. 1987. Tissue specific cytochrome c oxidase activity in largemouth bass: the metabolic cost of feeding and growth. *Physiol. Zool.* **60**: 454-464.
- Gorodilov, Y. N. 1996. Description of the early ontogeny of the Atlantic salmon, *Salmo salar*, with a novel system of interval (state) identification. *Environ. Biol. Fish.* **47**: 109-127.
- Gross, M. R. 1984. Sunfish, salmon, and the evolution of alternative reproductive strategies and tactics in fishes. *In* Fish reproduction: strategies and tactics. *Edited by* G. W. Potts and R. J. Wootton . Academic Press, London, Orlando. pp. 55-75.
- Gross, M. R. 1985. Disruptive selection for alternative life histories in salmon. *Nature*. **313**: 47-48
- Gross, M. R. 1991. Salmon breeding behavior and life history evolution in changing environments. *Ecology*. **72**(4): 1180-1186.
- Gross, M. R. 1996. Alternative reproductive strategies and tactic:diversity within sexes. *Tree*. **11**(2): 92-98.

- Gross, M. R. 1998. One species with two biologies: Atlantic salmon (*Salmo salar*) in the wild and in aquaculture. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **55**(Suppl. 1): 131-144.
- Gross, M. R., and Repka, J. 1998a. Inheritance in the conditional strategy. *In Game Theory and Animal Behavior. Edited by L. A. Dugatkin and H. K. Reeve.* Oxford University Press, Oxford. pp. 168-187.
- Gross, M. R., and Repka, J. 1998b. Stability with inheritance in the conditional strategy. *J. Theor. Biol.* **192**: 445-453.
- Guderley, H., and Gawlicka, A. 1992. Qualitative modification of muscle metabolic organization with the acclimation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiol. Biochem.* **10**(2): 123-128.
- Guderley, H., Houle Leroy, P., and Gagné, A. 2001. Thermal acclimation, growth, and burst swimming of threespine stickleback: enzymatic correlates and influence of photoperiod. *Physiol. Biochem. Zool.* **74**(1): 66-74.
- Gueguen, J. C., and Prouzet, P. 1994. Le saumon Atlantique: biologie et gestion de la ressource. IFREMER, Plouzané, Brest.
- Heinze, J., and Keller, L. 2000. Alternative reproductive strategies: a queen perspective in ants. *Tree.* **15**(12): 508-512.
- Higgins, P. J., and Thorpe, J. E. 1990. Hyperplasia and hypertrophy in the growth of skeletal muscle in juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Biol.* **37**: 505-519.
- Hochachka, P. W., and Somero, G. N. 2002. Biochemical adaptation - mechanism and process in physiological evolution. Oxford University Press, New York, N.Y.
- Hochachka, P. W., Stanley, C., Merkt, J. and Sumar-Kalinowski, J. 1982. Metabolic meaning of elevated levels of oxidative enzymes in high altitude adapted animals : an interpretive hypothesis. *Resp. Physiol.* **52**: 303-313.
- Jensen, J.O.T., McLean, W.E., Rombough, P.J., and Septav, T. 1992. Salmonid incubation and rearing programs for IBM-compatible computers. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.* **1878**: 46p.
- Jobling, M. 1994. Fish bioenergetics. Chapman & Hall, London, New York.
- Johnston, I. A. 2001. Genetic and environmental determinants of muscle growth patterns. *In Fish Physiology - Muscle Development and Growth. Edited by I. A. Johnston.* Academic Press, San Diego. pp.141-186.
- Johnston, I. A., and McLay, H. A. 1997. Temperature and family effects on muscle cellularity at hatch and first feeding in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Can. J. Zool.* **75**: 64-74.

- Johnston, I. A., Vieira, V. L. A., and Temple, G. K. 2001. Functional consequences and population difference in the developmental plasticity of muscle to temperature in Atlantic herring *Clupea harengus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **231**: 285-300.
- Johnston, I. A., Cole, N. J., Abercromby, M., and Vieira, V. L. A. 1998. Embryonic temperature modulates muscle growth characteristics in larval and juvenile herring. *J. Exp. Biol.* **201**: 623-646.
- Johnston, I. A., Alderson, R., Sandham, C., Mitchell, D., Selkirk, C., Dingwall, A., Nickell, D., Baker, R., Robertson, B., Whyte, D., and Springate, J. 2000. Patterns of muscle growth. *Aquaculture.* **189**: 307-333.
- Koch, F., and Wieser, W. 1983. Partitioning of energy in fish: can reduction of swimming activity compensate for the cost of production? *J. Exp. Biol.* **107**: 141-146.
- Kuo, N., Michalik, M., and Erecinska, M. 1994. Inhibition of glutamate dehydrogenase in brain mitochondria and synaptosomes by Mg^{2+} and polyamines: a possible cause for its low in vivo activity. *J. Neurochem.* **63**: 751-757.
- Kurdziel, J. P., and Knowles, L. L. 2002. The mechanisms of morph determination in the amphipod *Jassa*: implications for the evolution of alternative male phenotypes. *P. Roy. Soc. Lond. B. Bio.* **269**: 1749-1754.
- Lank, D. B., Smith, C. M., Hanotte, O., Burke, T., and Cooke, F. 1995. Genetic polymorphism for alternative mating behavior in lekking male ruff *Philomachus pugnax*. *Nature.* **378**: 59-62.
- Lassiter, T. L., Marshall, R. S., Jackson, L. C., Hunter, L. H., Vu, J. T., and Padilla, S. 2003. Automated measurement of acetylcholinesterase activity in rat peripheral tissues. *Toxicology.* **186**: 241-253.
- Matschak, T. W., Tyler, D. D., and Stickland, N. C. 1998. Metabolic enzyme activities in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) embryos respond more to chronic changes in oxygen availability than to environmental temperature. *Fish Physiol. Biochem.* **18**: 115-123.
- McGinnity, P., Prodöhl, P., Ferguson, A., Hynes, R., Maoláidigh, N. O., Baker, N., Deirdre, C., O'Hea, B., Cooke, D., Rogan, G., Taggart, J., and Cross, T. 2003. Fitness reduction and potential extinction of wild populations of Atlantic salmon, *Salmo salar*, as a result of interactions with escaped farm salmon. *P. Roy. Soc. Lond. B. Bio.* **270**: 2443-2450.
- Meekan, M. G., Dodson, J. J., Good, S. P., and Ryan, D. A. J. 1998. Otolith and fish size relationships, measurement error, and size-selective mortality during the early life of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **55**: 1663-1673.
- Metcalfe, N. B., Taylor, A. C., and Thorpe, J. E. 1995. Metabolic rate, social status and life-history strategies in Atlantic salmon. *Anim. Behav.* **49**: 431-436.

- Moczek, A. P., and Nijhout, H. F. 2003. Rapid evolution of a polyphenic threshold. *Evol. Dev.* **5**(3): 259-268.
- Myers, R. A. 1984. Demographic consequences of precocious maturation of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **41**: 1349-1353.
- Nathanailides, C., and Stickland, N. C. 1996. Activity of cytochrome *c* oxydase and lactate dehydrogenase in muscle tissue of slow growing (lower modal group) and fast growing (upper modal group) Atlantic salmon. *J. Fish Biol.* **48**: 549-551.
- Nathanailides, C., Lopez-Albors, O., and Stickland, N. C. 1995. Influence of pre-hatch temperature on the development of muscle cellularity in post-hatch Atlantic salmon. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **52**: 675-680.
- O'Reilly, P. T., Hamilton, L. C., McConnell, S. K., and Wright, J. M. 1996. Rapid analysis of genetic variation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) by PCR multiplexing of dinucleotide and tetranucleotide microsatellites. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **53**: 2292-2298.
- Patterson, D. A., Guderley, H., Bouchard, P., Macdonald, J. S., and Farrell, A. P. 2004. Maternal influence and population differences in activities of mitochondrial and glycolytic enzymes in emergent sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) fry. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **61**: 1225-1234.
- Pelletier, D., Guderley, H., and Dutil, J.-D. 1993. Does the aerobic capacity of fish muscle change with growth rates? *Fish Physiol. Biochem.* **12**(2): 83-93.
- Roff, D. A., and Gélinas, M. B. 2003. Phenotypic plasticity and the evolution of trade-offs: the quantitative genetics of resource allocation in the wing dimorphic cricket, *Gryllus firmus*. *J. Evol. Biol.* **16**: 55-63.
- Rombough, P. J. 1994. Energy partitioning during fish development: additive or compensatory allocation of energy to support growth? *Funct. Ecol.* **8**: 178-186.
- Rowe, D. K., and Thorpe, J. E. 1990. Differences in growth between maturing and non-maturing male Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. *J. Fish. Biol.* **36**: 643-658.
- Rowlerson, A., and Veggetti, A. 2001. Cellular mechanisms of post-embryonic muscle growth in aquaculture species. *In Fish Physiology. Edited by I. A. Johnston.* Academic Press, San Diego. pp.103 -140.
- Rüppell, O., and Heinze, J. 1999. Alternative reproductive tactics in females: the case of size polymorphism in winged ant queens. *Insect. soc.* **46**: 6-17.
- Ryan, M. J., Pease, C. M., and Morris, M. R. 1992. A genetic polymorphism in the swordtail *Xiphophorus nigrensis*: testing the prediction of equal fitness. *Am. Nat.* **139**(1): 21-31.

- Sambrook, J., and Russell, D.W. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, the third edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y.
- Shuster, S. M., and Wade, M. J. 1991. Equal mating success among male reproductive strategies in a marine isopod. *Nature*. **350**: 608-610.
- Sigurjonsdottir, H., and Gunnarsson, K. 1989. Alternative mating tactics of arctic charr, *Salvelinus alpinus*, in Thingvallavatn, Iceland. *Environ. Biol. Fish.* **26**: 159-176.
- Sinervo, B., and Zamudio, K. R. 2001. The evolution of alternative reproductive strategies: fitness differential, heritability, and genetic correlation between the sexes. *J. Hered.* **92**(2): 198-205.
- Singer, T. D., and Ballantyne, J. S. 1991. Metabolic organisation of a primitive fish, the Bowfin (*Amia calva*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **48**: 611-618.
- Slettan, A., Olsaker, I., and Lie, Ø. 1995. Atlantic salmon, *Salmo salar*, microsatellites at the *SSOSL25*, *SSOSL85*, *SSOSL311*, *SSOSL417* loci. *Anim. Genet.* **26**: 281-282.
- Smith, M. J. 1982. *Evolution and the Theory of Games*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., Fujimoto, E. K., Goeke, N. M., Olson, B. J., and Klenk, D. C. 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* **150**: 76-85.
- Taborsky, M. 1998. Sperm competition in fish: 'bourgeois' males and parasitic spawning. *Tree*. **13**(6): 222-227.
- Thomaz, D., Beall, E., and Burke, T. 1997. Alternative reproductive tactics in Atlantic salmon: factors affecting mature parr success. *P. Roy. Soc. Lond. B. Bio.* **264**: 219-226.
- Thorpe, J. E. 1987. Environmental regulation of growth patterns in juvenile Atlantic salmon. *In Age and growth of fish. Edited by Summerfelt and G.E. Hall.* Iowa State University Press, Ames, Iowa. pp. 463-474.
- Tomkins, J. L. 1999. Environment and genetic determinants of the male forceps length dimorphism in the European earwig *Forficula auricularia* L. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **47**: 1-8.
- Tucker, S., and Rasmussen, J. B. 1999. Using ¹³⁷Cs to measure and compare bioenergetic budgets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*) in the field. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **56**: 875-887.
- Tuttle, E. M. 2002. Alternative reproductive strategies in the white-throated sparrow: behavioral and genetic evidence. *Behav. Ecol.* **14**(3): 425-432.

- Utami, S. S., Goossens, B., Brudford, M. W., and Ruiter, J. R. 2002. Male bimaturism and reproductive success in Sumatran orang-utans. *Behav. Ecol.* **13**(5): 643-652.
- Valente, L. M. P., Rocha, E., Gomes, E. F. S., Silva, M. W., Oliveira, M. H., Monteiro, R. A. F., and Fauconneau, B. 1999. Growth dynamics of white and red muscle fibres in fast- and slow-growing strains of rainbow trout. *J. Fish Biol.* **55**: 675-691.
- Weatherley, A. H. 1990. Approaches to understanding fish growth. *Trans. Am. Fish. Soc.* **119**: 662-672.
- Weatherley, A. H., and Gill, H. S. 1985. Dynamics of increase in muscle fibers in fishes in relation to size and growth. *Experientia.* **41**: 353-354.
- Weatherley, A. H., Gill, H. S., and Rogers, S. C. 1980. Growth dynamics of mosaic muscle fibres in fingerling rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in relation to somatic growth rate. *Can. J. Zool.* **58**: 1535-1541.
- Whalen, K. G., and Parrish, D. L. 1999. Effect of maturation on parr growth and smolt recruitment of Atlantic salmon. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **56**: 79-86.
- Wieser, W. 1991. Limitations of energy acquisition and energy use in small poikilotherms: evolutionary implications. *Funct. Ecol.* **5**: 234-240.
- Wieser, W. 1994. Cost of growth in cells and organisms: general rules and comparative aspects. *Biol. Rev.* **68**: 1-33.
- Wieser, W. 1995. Energetics of fish larvae, the smallest vertebrates. *Acta Physiol. Scan.* **154**: 279-290.
- Wieser, W., Forstner, H., Medgyesy, N., and Hinterleitner, S. 1988. To switch or not to switch: partitioning of energy between growth and activity in larval cyprinids (Cyprinidae: Teleostei). *Funct. Ecol.* **2**: 499-507.
- Zatta, P., Lain, E., and Cagnolini, C. 2000. Effects of aluminium on activity of Krebs cycle enzymes and glutamate dehydrogenase in rat brain homogenate. *Eur. J. Biochem.* **267**: 3049-3055.

