

**Déterminants de la structure génétique de population du
tamia rayé (*Tamias striatus*) en milieu naturel**

par

Jennifer Chambers

mémoire présenté au Département de biologie en vue
de l'obtention du grade de maître ès science (M.Sc.)

FACULTÉ DES SCIENCES
UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

Sherbrooke, Québec, Canada, mars 2009



Library and
Archives Canada

Bibliothèque et
Archives Canada

Published Heritage
Branch

Direction du
Patrimoine de l'édition

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file *Votre référence*
ISBN: 978-0-494-49477-6
Our file *Notre référence*
ISBN: 978-0-494-49477-6

NOTICE:

The author has granted a non-exclusive license allowing Library and Archives Canada to reproduce, publish, archive, preserve, conserve, communicate to the public by telecommunication or on the Internet, loan, distribute and sell theses worldwide, for commercial or non-commercial purposes, in microform, paper, electronic and/or any other formats.

The author retains copyright ownership and moral rights in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

AVIS:

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque et Archives Canada de reproduire, publier, archiver, sauvegarder, conserver, transmettre au public par télécommunication ou par l'Internet, prêter, distribuer et vendre des thèses partout dans le monde, à des fins commerciales ou autres, sur support microforme, papier, électronique et/ou autres formats.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms may have been removed from this thesis.

Conformément à la loi canadienne sur la protection de la vie privée, quelques formulaires secondaires ont été enlevés de cette thèse.

While these forms may be included in the document page count, their removal does not represent any loss of content from the thesis.

Bien que ces formulaires aient inclus dans la pagination, il n'y aura aucun contenu manquant.



Canada

Le 25 mars 2009

le jury a accepté le mémoire de Mme Jennifer Chambers dans sa version finale.

Membres du jury

M. Dany Garant
Directeur
Département de biologie

M. Donald Thomas
Membre
Département de biologie

M. Marco Festa-Bianchet
Président-rapporteur
Département de biologie

SOMMAIRE

L'étude des patrons de dispersion et de flux génique est d'une importance indéniable puisqu'elle peut fortement influencer le potentiel évolutif et adaptatif des populations en milieux naturels. Il est donc important d'identifier et de comprendre l'impact des éléments de l'environnement qui facilitent ou inhibent le mouvement des individus. Une approche efficace à ce niveau est celle de la génétique du paysage puisqu'elle permet d'utiliser une combinaison de données spatiales et génétiques afin d'identifier les caractéristiques du paysage qui ont contribué à la formation du patron de structure génétique observé. L'objectif de ce projet était de caractériser les déterminants de la structure génétique observée à différentes échelles chez le tamia rayé (*Tamias striatus*) sur une aire d'étude hétérogène dans le Sud du Québec et de l'Ontario, Canada. Au niveau des déterminants géographiques de la structure génétique, j'ai détecté des barrières au flux génique reliées à des éléments du paysage, notamment le fleuve St. Laurent à grande échelle et la distance géographique à petite échelle. J'ai aussi détecté des patrons de structuration génétique différents pour les mâles et les femelles suggérant une dispersion biaisée par le sexe en faveur des mâles à toutes les échelles considérées. En conclusion, mes résultats illustrent l'importance de considérer simultanément les éléments du paysage et la distance géographique comme déterminants du patron de structure génétique, de prendre en considération l'échelle à laquelle agit chacun des déterminants et d'utiliser les mesures appropriées au plan d'échantillonnage pour la détection de dispersion biaisée par le sexe.

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je tiens à remercier mon directeur de recherche, Dany Garant, pour son soutien et ses conseils pertinents pour la durée de ma maîtrise. Merci également aux membres de mon comité de conseillers, Marco Festa-Bianchet et Don Thomas, pour les discussions formatrices lors de nos rencontres. Mon projet a débuté au sein d'un projet de collaboration entre cinq chercheurs des universités de Sherbrooke, McGill et de l'université de Québec à Montréal. J'aimerais remercier Murray Humphries, Don Kramer, Denis Réale, Don Thomas et mon directeur, les chercheurs en tête du projet Tamia, pour avoir entamé un tel projet. En tant que coordonnateur de terrain enthousiaste et motivé, Daniel Munro mérite aussi un grand remerciement. Un autre avantage important d'un projet de collaboration est d'avoir la chance de connaître plusieurs étudiants gradués avec qui j'ai eu l'énorme plaisir de partager le travail de terrain : Manuelle Landry-Cuerrier, Pierre-Olivier Montiglio, Stefanie LaZerte et Vincent Careau. Finalement, le terrain Tamia ne serait pas possible sans les nombreux assistants de terrain formidables que nous avons eu la chance d'avoir parmi nous depuis l'été 2004.

Merci également à Albrecht Schulte-Hostedde pour les échantillons du parc Algonquien, à Mélissa Lieutenant-Gosselin pour son appui essentiel au laboratoire, aux assistants de laboratoire pour leur travail assidu et à Caroline Girard pour son aide avec les systèmes d'information géographique. Finalement, je tiens à remercier tous les membres de mon laboratoire pour leur soutien moral et scientifique, ainsi que pour les moments agréables passés en leur compagnie au cours des deux dernières années.

TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
TABLE DES MATIÈRES.....	iii
LISTE DES TABLEAUX.....	v
LISTE DES FIGURES.....	vi
INTRODUCTION.....	1
Outils moléculaires.....	1
Structure génétique.....	2
Génétique du paysage.....	4
Dispersion biaisée par le sexe.....	5
Espèce modèle.....	6
Objectifs.....	7
CHAPITRE 1.....	10
ABSTRACT.....	11
INTRODUCTION.....	12
MATERIALS AND METHODS.....	15
Study area and tissue sampling.....	15
DNA extraction.....	16
Microsatellite loci amplification and genotyping.....	16
Microsatellite polymorphism analysis.....	18
Genetic differentiation analyses.....	18
Landscape genetic analyses.....	19
Historical isolation.....	20
RESULTS.....	22
Microsatellite loci analyses.....	22
Genetic differentiation analyses.....	22
Landscape genetic analyses.....	24

Historical isolation.....	28
Sex-biased dispersal	29
DISCUSSION.....	31
Population differentiation	31
Landscape genetic analyses.....	32
Historical isolation.....	35
Acknowledgements	37
CONCLUSION	38
Génétique du paysage.....	38
Dispersion biaisée par le sexe.....	39
Limitations du système d'étude et analyses complémentaires.....	40
BIBLIOGRAPHIE	42

LISTE DES TABLEAUX

1.	Microsatellite loci details including the Genbank accession number, repeat motif, the allele size range in base pairs, the annealing temperature in degrees Celsius and the recipe for the polymerase chain reaction (see Table 2 for the recipe details). For Chip 11 a Genbank accession number is not available at this time.	17
2.	Polymerase chain reaction recipes (final volume of 10uL per sample) for the seven microsatellite loci used in this study.	17
3.	Sample sizes, heterozygosity and number of alleles for each locus at each sampling site. Sample size (F, M, ?): number of females, males and unknowns typed for each site; H_E : expected heterozygosity; H_O : observed heterozygosity; Alleles: number of alleles per sampling site.	23
4.	Geographic distance and genetic differentiation between all pairs of sampling sites. Below the diagonal: linear geographic distances (obtained from ESRI ArcMap version 9.2) in kilometers between sites; above the diagonal: pairwise F_{ST} values between sampling sites, significant values in bold type.	24
5.	Mantel and Partial Mantel test results with the percentage variation explained by the model, correlation and partial correlation coefficients and associated P -values. The St. Lawrence River is abbreviated as StL in this table.	27
6.	Analysis of molecular variance (AMOVA) calculated for three levels of hierarchy: among groups (groups of sampling sites north or south of St. Lawrence River), among sites within groups (individual sampling sites within north and south groups), and within sites.	28
7.	Signal of historical isolation between chipmunk sampling sites across southern Quebec and Ontario, Canada. Below the diagonal: observed R_{ST} values. Above the diagonal P -values obtained for the $R_{ST} - pR_{ST}$ comparisons. Significant values (in bold type) suggest the presence of historical isolation.	29
8.	Sex-biased dispersal index values for male and female chipmunks. Mean assignment index (m_{AI}), variance in assignment index (v_{AI}) and F_{ST} values for all sites and for sites north and south of the St-Lawrence River respectively. Significant P -values (in bold) indicate a significant difference in index values between the sexes.	30

LISTE DES FIGURES

1. Map of sampling site locations. Coordinates of sampling sites (black squares) in decimal degrees in southern Quebec and Ontario: Algonquin Park (Ontario) (45.78°, -78.38°), Gatineau Park (Gatineau, Quebec) (45.47°, -75.81°), Kenauk Reserve (Montebello, Quebec) (45.75°, -74.81°), Mont Saint-Hilaire (Mont Saint-Hilaire, Quebec) (45.55°, -73.15°), Mont Orford Park (Orford, Quebec) (45.34°, -72.24°), and two sites in close proximity on the Ruitter Valley Land Trust (Mansonville, Quebec) (45.09°, -72.45° ; 45.09°, -72.44°). Major cities are indicated by black triangles..... 15
2. Neighbor joining tree depicting the relationships between the seven sampling sites obtained from Cavalli-Sforza and Edwards genetic distance (D_{CE}). Bootstrap support (%) is shown in grey boxes..... 25
3. Isolation-by-distance graph showing the correlation between geographic distance and linearized F_{ST} ($r = 0.595$, slope = 0.0004, $P = 0.006$) among sites.. 26

INTRODUCTION

L'étude de la structure génétique des populations est d'une importance indéniable puisqu'elle permet de documenter les forces évolutives (*e.g.* dérive génique, flux génique, migration, sélection) qui agissent sur et entre les populations d'espèces sauvages (Balloux et Lugon-Moulin, 2002). L'interaction entre ces forces affecte la variabilité génétique et, donc, le potentiel adaptatif d'une espèce. Les patrons de dispersion et de flux génique peuvent agir sur ce potentiel de façon positive ou négative, selon le contexte (revu dans Garant *et al.*, 2007 ; Slatkin, 1987). Par exemple, une augmentation du flux génique *via* la dispersion vers une population peut engendrer un effet positif si cette population est isolée et en danger de disparaître due à une pénurie de diversité génétique (*e.g.* Ebert *et al.*, 2002). D'autre part, si une population est bien adaptée à son environnement, une augmentation du flux génique provenant d'une source extérieure peut avoir des effets néfastes si elle introduit des gènes mal adaptés à cet environnement (revu dans Garant *et al.*, 2007 ; *e.g.* King et Lawson, 1995). C'est dans ce contexte que l'évaluation des caractéristiques du paysage devient primordiale puisqu'elles influencent le taux et la direction de la dispersion (Fahrig et Merriam, 1994 ; Sork *et al.*, 1999). Or, ces informations peuvent servir dans les domaines de la conservation et de la gestion de la faune en permettant, par exemple, de prévoir les impacts de changements anthropogéniques du paysage sur la variabilité et la structure génétique (Lada *et al.*, 2008b).

Outils moléculaires

Afin d'étudier les patrons de structure génétique, plusieurs marqueurs moléculaires sont disponibles, *e.g.* ADN mitochondrial, les allozymes, les marqueurs minisatellites et les marqueurs microsatellites. Parmi ces marqueurs, les marqueurs microsatellites de l'ADN se démarquent puisqu'ils permettent de : calculer des fréquences d'allèles en vue d'une panoplie d'applications, profiter d'une haute résolution due à un haut niveau de diversité et de polymorphisme et bénéficier d'un protocole de laboratoire relativement simple et rapide

(Parker *et al.*, 1998). Les microsatellites de l'ADN sont des régions sur le génome où il y a une série de répétitions consécutives d'un à six nucléotides. Le nombre de répétitions est variable, mais se situe généralement entre 5 et 40. Ces zones subissent un haut taux de mutation, environ 10^{-3} (Jarne et Lagoda, 1996 ; Weber et Wong, 1993), qui change le nombre de répétitions et, par le fait même, la longueur des microsatellites. Ces différences de longueur sont détectables par électrophorèse et permettent donc de distinguer les allèles. Les séquences d'ADN de part et d'autre de cette série de répétitions sont très fortement conservées chez les individus d'une même espèce et parfois chez plusieurs espèces proches. Ceci permet le développement d'amorces qui repèrent des microsatellites précis et guident leur amplification par réaction de polymérase en chaîne (Selkoe et Toonen, 2006). La détection de la structure génétique est seulement une des nombreuses utilisations possibles des marqueurs microsatellites en écologie, car ils peuvent aussi être employés pour l'assignation parentale (Jones et Ardren, 2003), le calcul des indices d'apparentement (Blouin, 2003) et l'estimation des taux de migration (Paetkau *et al.*, 2004). Idéalement, des amorces microsatellites conçues spécifiquement pour l'espèce à l'étude devraient être utilisées pour détecter les niveaux de différenciation interpopulationnelle, car elles seront plus polymorphes (Selkoe et Toonen, 2006).

Structure génétique

La structure génétique interpopulationnelle est détectée en calculant divers indices de différenciation génétique tels que le F_{ST} (Wright, 1951) et le R_{ST} de Slatkin (1995). La mesure de différenciation F_{ST} (Wright, 1951) est basée sur le concept d'avoir une métapopulation divisée en sous-populations et utilise comme hypothèse nulle que les fréquences d'allèles dans les sous-populations sont identiques à celles de la métapopulation (*i.e.* panmixie). Lorsqu'une structure génétique se développe, les fréquences d'allèles à l'intérieur de et entre les sous-populations se mettent à dévier de la panmixie. La mesure F_{ST} reflète la différence entre l'hétérozygotie attendue sous panmixie, H_T , (*i.e.* s'il n'y avait pas division de la métapopulation) et l'hétérozygotie moyenne observée dans l'ensemble des sous-populations

(H_S). Autrement dit, F_{ST} mesure la diminution d'hétérozygotie dans la métapopulation due à sa division en sous-populations (voir équation 1). Les valeurs de cette mesure varient entre 0 et 1 et plus les valeurs sont élevées plus la différenciation est prononcée.

$$F_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$$

« équation 1 »

En raison du taux élevé de mutation des microsatellites, la procédure génératrice de nouveaux allèles, il devient important de tenir compte du patron de mutation des loci. La mesure F_{ST} présume un patron de mutation IAM (« infinite allele model ») (Balloux et Lugon-Moulin, 2002) qui suggère que chaque mutation génère un allèle unique avec un nombre de répétitions aléatoire. C'est une procédure sans « mémoire » de l'état précédent où la différence en répétitions entre deux allèles ne donne aucune information sur le temps écoulé depuis un allèle ancêtre commun (Kimura et Crow, 1964). Alternativement, Slatkin (1995) a introduit la mesure R_{ST} qui intègre le modèle de mutation SMM (« stepwise mutation model »). Ce modèle suppose que chaque mutation engendre l'addition ou la soustraction d'une répétition et, donc, la différence en répétitions entre deux allèles donne une indication quant au temps écoulé depuis un ancêtre commun (Kimura et Ohta, 1978 ; Ohta et Kimura, 1973). Selon les études menées jusqu'à présent, il semble que le modèle de mutation SMM soit le plus commun pour les marqueurs microsatellites, mais que des mutations suivant un modèle d'IAM se produisent aussi à un taux non-négligeable (Selkoe et Toonen, 2006). Étant donné qu'aucune de ces mesures (F_{ST} et R_{ST}) ne semblent systématiquement mieux convenir à tous les marqueurs, les deux sont généralement calculées pour un même jeu de données (Balloux et Lugon-Moulin, 2002). Dans leur article de synthèse, Selkoe et Toonen (2006) résument la question en affirmant que malgré que le modèle de mutation SMM semble être le plus commun, les mesures qui y sont rattachées deviennent peu fiables lorsqu'il y a déviation de ce modèle (dans les systèmes plus « jeunes » par exemple) et que dans ces cas les mesures basées sur le modèle IAM sont plus robustes.

Génétique du paysage

Une fois le patron de structure génétique mis en évidence, la prochaine étape est d'identifier les déterminants de ce patron grâce aux mesures de différenciation mentionnées auparavant. Puisque la structure génétique mesurée par les marqueurs neutres se développe à la base en fonction de l'interaction entre le flux génique et la dérive génique (Slatkin, 1987), tout facteur qui agit sur ces forces peut influencer le patron de structure que l'on observe. Le flux génique entre populations est généralement fortement lié la dispersion des individus, à condition que ces individus se reproduisent dans leur nouvel environnement (Ehrlich et Raven, 1969). Ce mouvement par les animaux peut être limité ou facilité par le paysage entre deux sites (Taylor *et al.*, 1993), ce qui peut entraîner un effet sur le flux génique entre les sites et, donc, une structure génétique plus ou moins prononcée dans le système d'étude. Une approche de « génétique du paysage » permet d'utiliser une combinaison de données spatiales et génétiques afin d'identifier les caractéristiques du paysage qui ont contribué à la formation du patron de différenciation génétique observée (Manel *et al.*, 2003 ; Storfer *et al.*, 2007).

Un des premiers déterminants spatiaux de la structure génétique à être étudié est la distance géographique entre les sites d'échantillonnage (*e.g.* Dewey et Heywood, 1988 ; Waser et Elliott, 1991). Étant donné que la distribution géographique d'une espèce est généralement plus grande que la distance moyenne de dispersion des individus de cette espèce, les populations plus rapprochées s'échangeront plus de migrants que les populations plus éloignées (Slatkin, 1987). Sous ces conditions, un patron de différenciation d'isolement par la distance est attendu et prédit que les sous-populations les plus rapprochées géographiquement seront plus semblables génétiquement que celles qui sont plus éloignées (Slatkin, 1985 ; Wright, 1943). Ce patron a été détecté chez plusieurs espèces et à des étendues géographiques variées (voir Mills *et al.*, 2007 ; Pogson *et al.*, 1995), mais pas toujours (*e.g.* Ehrlich et Stenseth, 2001). La détection de ce patron en conditions naturelles peut être fortement compromise si l'échelle géographique de l'étude n'est pas adéquate, si des obstacles importants au flux génique sont présents, si la colonisation de cette région par cette espèce est très récente

ou par une combinaison de ces facteurs (Castric et Bernatchez, 2003 ; Leblois *et al.*, 2000 ; Pogson *et al.*, 2001 ; Trénel *et al.*, 2008).

Grâce au développement de nouvelles techniques statistiques, la génétique du paysage offre maintenant la possibilité de vérifier les effets de caractéristiques du paysage autres que la distance géographique. Ces techniques statistiques permettent aux chercheurs de corrélérer la présence de discontinuités génétiques abruptes à des éléments précis du paysage présents dans l'aire d'échantillonnage (Manel *et al.*, 2003). C'est de cette manière que des barrières au flux génique (naturelles ou anthropogéniques) peuvent être identifiées pour une aire d'étude donnée. Les barrières au flux génique reliées au paysage détectées jusqu'à présent sont très diverses, incluant les rivières (Anthony *et al.*, 2007 ; Eriksson *et al.*, 2004), les chaînes de montagnes (Trénel *et al.*, 2008), les terres agricoles (Lada *et al.*, 2008a) et les routes (Kuehn *et al.*, 2006 ; Pérez-Espona *et al.*, 2008). Par contre, malgré qu'il soit possible d'identifier ces barrières, l'échelle à laquelle l'effet de la barrière sur la structure et la diversité génétique est la plus ressentie reste à déterminer, notamment pour les espèces qui vivent dans des milieux où l'habitat est hétérogène.

Dispersion biaisée par le sexe

La structure génétique peut aussi être influencée par des déterminants reliés à l'histoire de vie et au comportement des espèces (voir Altmann *et al.*, 1996 ; Clark *et al.*, 2008). Par exemple, les différences dans les patrons de dispersion entre les mâles et les femelles peuvent engendrer des différences dans leurs patrons de structure génétique (Lawson Handley et Perrin, 2007). La dispersion biaisée par le sexe est un sujet qui a fait l'objet de plusieurs recherches chez les oiseaux et les mammifères. Le patron général est que chez les mammifères le biais est en faveur des mâles, mais que chez les oiseaux le biais serait en faveur des femelles (Greenwood, 1980 ; Lawson Handley et Perrin, 2007). Par contre, des exceptions à cette règle générale ont été relevées dans les deux cas (*e.g.* *Crocidura russula* – Favre *et al.*, 1997 ; *Quelea quelea* – Dallimer *et al.*, 2002).

De plus, il existe des cas où même au niveau intra-spécifique la direction du biais de dispersion varie selon les études effectuées (e.g. African wild dogs (*Lycaon pictus*) – McNutt, 1996). Ces résultats équivoques pourraient être dus à la variation dans l'échelle spatiale des études et de l'influence potentielle du paysage, deux avenues de recherche qui ont reçu peu d'attention dans la littérature (Lawson Handley et Perrin, 2007 ; mais voir Fontanillas *et al.*, 2004). Une échelle d'échantillonnage trop petite relative à la capacité de dispersion d'une espèce et/ou une influence inégale du paysage en fonction du sexe pourrait engendrer une fausse idée du patron de dispersion biaisée par le sexe. Il est donc important d'échantillonner des groupes d'individus sur une échelle spatiale appropriée selon la biologie de l'espèce et de considérer également les déterminants de la structure populationnelle reliés au paysage.

Espèce modèle

Le tamia rayé (*Tamias striatus*) est idéal pour des recherches en génétique des populations, car il est facilement capturable, est commun dans les forêts du sud du Québec et son écologie et ses traits d'histoire de vie sont relativement bien connus. C'est un animal solitaire occupant un terrier souterrain qui est situé généralement vers le centre de son domaine vital qui peut varier entre 0,05 et 0,6 hectares (Forsyth et Smith, 1973). Les territoires sont constitués de deux parties : la partie plus centrale, qui est activement défendue par le tamia résident, et la partie plus périphérique, qui chevauche souvent les domaines vitaux d'autres individus (Yahner, 1978). Durant l'été, les tamias rayés se nourrissent de graines, de noix et d'autres fruits d'arbres et de plantes, ainsi que d'insectes et de champignons (Elliott, 1978 ; Yahner, 1978). Ils possèdent des bajoues extensibles qu'ils peuvent remplir de nourriture dans le but de la transporter à leur terrier. Le stockage de nourriture fait durant le printemps, l'été et l'automne est primordial, car c'est ceci qui permet aux tamias de survivre l'hiver dans son terrier (Elliott, 1978). Les tamias rayés expriment la torpeur l'hiver lorsqu'ils sont dans leurs terriers (Munro *et al.*, 2005). La reproduction chez cette espèce peut avoir lieu au printemps (entre février et avril), durant l'été (entre avril et juin) et au début de l'automne (entre août et octobre). Les mâles et les femelles ne s'associent que brièvement pour la copulation et les mâles ne

participent pas à l'élevage des jeunes. Durant la période d'œstrus des femelles, les mâles ont tendance à voyager de longues distances relatives à celles qu'ils voyagent généralement aux autres périodes de l'année, parfois plus de 200 m, pour tenter de copuler avec une femelle réceptive (Yahner, 1978). Après environ 30 jours de gestation et 40 jours dans le terrier, les jeunes émergent (Elliott, 1978). Ils partagent un terrier avec leur mère pendant environ une semaine et ensuite dispersent pour se trouver un terrier vacant (Elliott, 1978 ; Yahner, 1978).

Jusqu'à présent, nos connaissances sur les déterminants de la structure génétique de cette espèce sont très limitées. Une étude de White et Svendsen (1992) a démontré à l'aide d'allozymes qu'une structure génétique était détectable entre sites d'échantillonnage séparés de moins de 1,5 km, mais pas pour des sites séparés de moins de 1,0 km. Leurs analyses démontrent également un signal d'isolement par la distance à très petite échelle ($\leq 7,5$ km), mais pas pour des distances plus grandes ($> 7,5$ km). Donc, malgré l'abondance de cette espèce dans l'aire d'étude et des connaissances bien établies sur son histoire de vie (Elliott, 1978 ; Yahner, 1978), il est toutefois difficile de prédire son patron de structure génétique en fonction du paysage du à la complexité des mécanismes sous-jacents à sa dynamique des populations (Bowman *et al.*, 2008 ; Elliot, 1978 ; Merritt *et al.*, 2001 ; Wolff, 1996).

Objectifs

L'objectif général de ce projet était de caractériser les déterminants de la structure génétique observée chez le tamia rayé (*Tamias striatus*) sur une aire d'étude hétérogène dans le Sud du Québec et de l'Ontario, Canada. Pour atteindre mon objectif général, j'ai généré trois objectifs plus précis. En premier lieu, je vais établir si une structure génétique interpopulationnelle est présente à grande échelle dans mon aire d'étude. Deuxièmement, je tenterai d'identifier les déterminants géographiques du patron de structure génétique observé (*e.g.* la distance linéaire géographique et des éléments du paysage agissant comme barrières au flux génique). Finalement, j'établirai s'il y a présence de dispersion biaisée par le sexe pour cette espèce et caractériserai l'effet de l'échelle spatiale sur sa détection.

Mon étude bénéficiera d'abord de marqueurs plus polymorphes que ceux utilisés par White et Svendsen (1992), car mes amorces microsatellites ont été développées pour le tamia rayé par le Savannah River Ecology Laboratory de l'université de Georgia (Peters *et al.*, 2007) et par le laboratoire de génétique de l'université Purdue (Anderson *et al.*, 2006). De plus, mon projet est réalisé sur une aire d'étude beaucoup plus grande (environ 35 000 km²), avec un plus grand nombre de sites d'échantillonnage et un plus grand nombre d'échantillons. Les échantillons proviennent de sept sites: le parc Algonquien, la réserve Kenauk, le parc de la Gatineau, le parc du Mont St.-Hilaire, le parc du Mont Orford et deux sites dans la Ruiter Valley Land Trust. Ce projet est donc la première étude de génétique du paysage à être menée chez cette espèce ayant comme objectif précis d'identifier les éléments du paysage (autre que la distance géographique) qui ont contribué à la formation du patron de structure génétique observé.

Mon étude est également la première à vérifier génétiquement s'il existe un biais par le sexe sur la dispersion chez le tamia rayé. Loew (1999) a étudié la dispersion en effectuant un suivi détaillé d'une population par trappage et par télémétrie entre 1986-1990 et a démontré que les mâles et les femelles dispersent, mais qu'il existe un biais pour le sexe dans la distance de dispersion. Les mâles ont tendance à s'éloigner plus loin en moyenne du territoire natal que les femelles, soit 345 m et 85 m respectivement (Loew, 1999). Ceci implique qu'en général deux femelles voisines seront plus apparentées que deux mâles voisins ou que des voisins de sexe opposé. Les résultats de Loew (1999) suggèrent que ce biais aurait évolué pour améliorer le succès reproducteur des mâles (en diminuant la compétition avec les mâles déjà présents et en s'exposant à des femelles qui lui sont moins apparentées) et par la repousse des jeunes mâles par leurs mères dans le but d'éviter des accouplements avec leurs fils. Mon projet vise à tester ce patron en vérifiant si une différence entre les sexes est détectable au niveau de la structure génétique où la structure des femelles serait plus prononcée que celle des mâles (Vitalis, 2002). Malgré que généralement les deux approches (traditionnelle et génétique) pour la détection de dispersion biaisée par le sexe génèrent des résultats concordants (*e.g.* Blundell *et al.*, 2002 ; Cutrera *et al.*, 2005), il existe des cas où une contre-vérification génétique a détecté un patron de dispersion biaisé opposé de celui trouvé auparavant par les techniques

traditionnelles (Coulon *et al.*, 2006) ou un patron tout à fait 'invisible' aux techniques traditionnelles de terrain (Möller et Beheregaray, 2004).

CHAPITRE 1

DETERMINANTS OF POPULATION GENETIC STRUCTURE IN EASTERN CHIPMUNKS (*TAMIAS STRIATUS*)

Auteurs : Jennifer Chambers et Dany Garant

L'étude des patrons de dispersion et de flux génique sont d'une importance indéniable puisqu'ils peuvent fortement influencer le potentiel évolutif et adaptatif des populations en milieux naturels. Il est donc important d'identifier et de comprendre l'impact des éléments du paysage qui facilitent ou inhibent le mouvement des individus. L'objectif général de cet article était de caractériser les déterminants de la structure génétique observée chez le tamia rayé (*Tamias striatus*) sur une aire d'étude hétérogène dans le Sud du Québec et de l'Ontario (Canada) en employant une approche de génétique du paysage. Jusqu'à présent, nos connaissances sur les déterminants de la structure génétique de cette espèce sont très limitées et mon projet est la première étude de génétique du paysage à être menée chez cette espèce ayant comme objectif précis d'identifier les éléments du paysage (autres que la distance géographique) qui ont contribué à la formation du patron de structure génétique observé. Par ailleurs, mon étude est la première à vérifier génétiquement s'il existe un biais par le sexe sur la dispersion chez le tamia rayé.

Mes contributions principales à la réalisation de cet article incluent la collecte de données sur le terrain, les manipulations génétiques de laboratoire, les analyses statistiques et la rédaction de la première version de ce manuscrit. Dany Garant a contribué par son encadrement du projet et en participant à la rédaction de la version finale du manuscrit. Nous visons le périodique *Molecular Ecology* pour la publication de ce manuscrit.

ABSTRACT

Patterns of dispersal or gene flow can greatly affect the evolutionary and adaptive potential of wild populations. Assessing their importance is thus critical, especially in contexts where environmental attributes may enhance or restrict the movements of individuals across patchy habitats. A landscape genetics approach is effective in that respect as it combines spatial and genetic data to identify landscape features that play a role in shaping genetic structure. The primary objective of our research was to characterize the determinants of population genetic structure in the eastern chipmunk (*Tamias striatus*) over a large heterogeneous study area in southern Quebec and Ontario, Canada. We found evidence that major rivers and geographic distance act as important barriers to gene flow at large and small scales. We also detected a signal of male-biased gene flow at all scales considered. Our findings highlight the importance of simultaneously taking into account landscape elements and geographic distance, considering the scale at which determinants of genetic structure may act and using the appropriate measures to detect sex-biased dispersal based on the characteristics of the sampling design.

Key words: genetic differentiation, landscape genetics, isolation-by-distance, microsatellite loci, sex-biased dispersal, Tamias striatus

INTRODUCTION

Identifying and explaining patterns of population genetic structure in natural populations is vital for our understanding of how genetic variation is maintained across a species' range. Patterns of dispersal or gene flow may greatly affect the evolutionary and adaptive potential of populations, either positively or negatively (Slatkin 1987; reviewed in Garant *et al.* 2007). Assessing their importance is thus critical, especially in contexts where environmental attributes may enhance or restrict the movements of individuals across patchy habitats (see Sork *et al.* 1999).

A landscape genetics approach allows the use of a combination of spatial and genetic data in order to identify landscape features that play a role in shaping the genetic structure of populations (Manel *et al.* 2003; Storfer *et al.* 2007). One of the first spatial determinants of genetic structure investigated was the geographic distance between populations (*e.g.* Dewey & Heywood 1988; Waser & Elliott 1991). Given that the overall range of a species is generally larger than its average dispersal distance, it is likely that populations in close proximity will be less differentiated than populations further apart, as opposed to the traditional island model (Wright 1943; Slatkin 1985). This pattern of differentiation is referred to as isolation-by-distance (henceforth referred to as IBD) and has been detected in many study systems and at many geographic scales (*e.g.* Pogson *et al.* 1995; Mills *et al.* 2007).

Using new and repurposed statistical tools, the landscape genetics approach permits researchers to go beyond geographic distance and correlate the genetic discontinuities detected in a dataset with the landscape features present in the sampling area (Manel *et al.* 2003). As such, obstacles to gene flow (anthropogenic or natural) in a system can be identified with precision and, consequently, gene flow has often been shown to be constrained by physical barriers present in the environment (see Keyghobadi *et al.* 1999; Crispo *et al.* 2006; Giordano *et al.* 2007). Such information is crucial to obtain as it can guide conservation and management efforts, as well as help predict the effects of anthropogenic land use

modifications on existing populations (e.g. Lada *et al.* 2008b). Yet, for many species with limited dispersal and living across fragmented landscapes, it is still unclear at what scale a barrier to gene flow will be most important in shaping population structure and genetic variation.

Besides landscape influences, population genetic structure can also be shaped by factors intrinsic to a species' life history and behavior (see Whitehead *et al.* 1998; McDonald *et al.* 1999; Clark *et al.* 2008). One such determinant shown to affect the structuring of genetic variation within a species is gender (Lawson Handley & Perrin 2007). Sex-biased dispersal has been studied extensively in mammals and birds and a trend has emerged where male-biased dispersal is common in mammalian species whereas dispersal in avian species is generally female-biased (Greenwood 1980; Lawson Handley & Perrin 2007). However, in both cases exceptions to the trend have been identified (e.g. greater white-toothed shrew (*Crocidura russula*) - Favre *et al.* 1997; red-billed quelea (*Quelea quelea*) - Dallimer *et al.* 2002). Furthermore, there is some evidence that the direction of biased dispersal is unclear even intra-specifically (e.g. African wild dogs (*Lycaon pictus*) – McNutt 1996). One possible reason for these equivocal results is the disparity in the scale of analyses among studies, whereby one sex might be wrongly identified as the dispersing sex if the sampling scale is too small relative to the dispersal capacity of the species or if landscape influences are not taken into account in such analyses. It is therefore important to include groups of animals collected over an appropriate scale relative to the biology of the species and to combine such analyses with ones including major landscape determinants of population structure.

Prior to the use of genetic markers, direct methods such as telemetry and capture-mark-recapture based studies were the principal means of detecting sex-biased dispersal (Koenig *et al.* 1996). These methods have been shown to suffer from biases related to the finite size of study areas, difficulty detecting long-distance dispersal events, imperfect relationship between observed dispersal and effective dispersal, and restricted time period of studies (Koenig *et al.* 1996; Bohonak 1999; Whitlock & McCauley 1999), all of which affect the detection of sex-biased dispersal. Direct methods are now being combined with indirect methods of detection

which use genetic markers that are less sensitive to these types of biases (Lawson Handley & Perrin 2007; Schweizer *et al.* 2007). Indirect methods of detecting sex-biased dispersal are based on the spatial distribution of alleles and two approaches have emerged. The first compares the difference in genetic structure between the sexes using F -statistics, while the second compares the average 'assignment index' of each sex (Goudet *et al.* 2002). The assignment index is a measure of the probability of an individual's genotype in the population in which it was captured (Paetkau *et al.* 1995; Favre 1997); overall lower assignment indices for one sex suggest that dispersal is biased for that sex. Given that comparisons of the results from direct and indirect methods are not always congruous (Hammond *et al.* 2006), it is imperative to compare information derived from both types of methods to better interpret their biological meaning.

The primary objective of our research was to characterize the determinants of population genetic structure in the eastern chipmunk (*Tamias striatus*) - a small-sized rodent abundant throughout eastern North America - over a large heterogeneous study area in southern Quebec and Ontario, Canada. Dispersal distances are suspected to be short (a few hundred metres) in this species (Loew 1999). Yet, despite its abundance and well-known ecology, the complexity of the processes involved in eastern chipmunk population dynamics (Elliot 1978; Wolff 1996; Merritt *et al.* 2001; Bowman *et al.* 2008) makes it difficult to predict the resulting pattern of genetic variation and population structuring across the landscape. We thus first established that genetic structure does, in fact, exist at the scale of our sampling area. Then, we investigated geographic factors (*e.g.* linear geographic distance and landscape barriers to gene flow) to identify their roles in shaping the pattern of genetic structure we observed. Finally, we sought to assess if sex-biased dispersal occurs in this species and to determine how the scale of sampling can influence its detection.

MATERIALS AND METHODS

Study area and tissue sampling

Sampling was conducted in seven different sites across southern Quebec and Ontario, Canada (see Figure 1) covering approximately 35 000 km². Adult chipmunks were captured using Sherman or Longworth traps, marked using ear tags, sexed and tissue sampled from the outer rim of the ear (2 mm²) for subsequent genetic analyses. Tissue samples were preserved in 95% ethanol until DNA extractions.

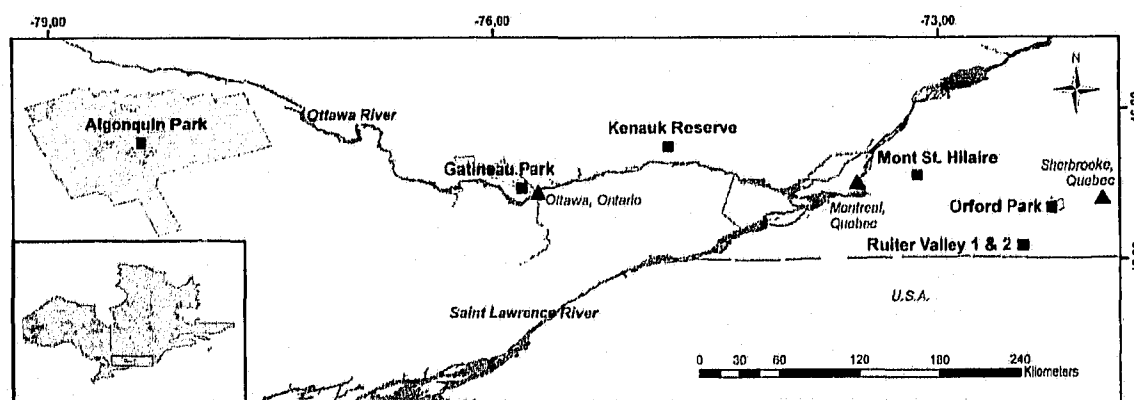


Figure 1 Map of sampling site locations. Coordinates of sampling sites (black squares) in decimal degrees in southern Quebec and Ontario: Algonquin Park (Ontario) (45.78°, -78.38°), Gatineau Park (Gatineau, Quebec) (45.47°, -75.81°), Kenauk Reserve (Montebello, Quebec) (45.75°, -74.81°), Mont Saint-Hilaire (Mont Saint-Hilaire, Quebec) (45.55°, -73.15°), Mont Orford Park (Orford, Quebec) (45.34°, -72.24°), and two sites in close proximity on the Ruitter Valley Land Trust (Mansonville, Quebec) (45.09°, -72.45° ; 45.09°, -72.44°). Major cities are indicated by black triangles.

DNA extraction

DNA extraction was performed using a modified version of Aljanabi and Martinez' (1997) salting out method. Briefly, after allowing ethanol to evaporate from the tissue sample, saline extraction buffer (2 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl, 0.4 M NaCl), SDS and proteinase K were added to the sample and incubated overnight at 60°C. The following morning, more proteinase K was added; the mixture was vortexed and incubated for 2 additional hours at 60°C. Once digested, 300 μ L of 6 M saline solution were added, the mixture was vortexed and centrifuged for 30 minutes at 6000 g. We then transferred 600 μ L of the aqueous solution into a clean 1.5 mL microtube. The DNA was precipitated by a one hour incubation at minus 20°C with 600 μ L isopropanol and then pelleted by centrifugation for 20 minutes at 10 000 g. Pellet was rinsed with 200 μ L of 70% ethanol, spun again at 10 000 g for 10 minutes and then left to air dry over night. The next day, the pellet was resuspended using 200 μ L of distilled water. After having determined the DNA concentration using gel electrophoresis, samples were diluted to a concentration of 5 ng/ μ L for polymerase chain reaction (PCR) amplification.

Microsatellite loci amplification and genotyping

We used a PCR protocol employing primer sets from both Anderson *et al.* 2006 (EaCh 3, EaCh 4, EaCh 7, EaCh 11, EaCh 12) and Peters *et al.* 2007 (Chip 5, Chip 14, Chip 39, Chip 204). An additional unpublished microsatellite locus, Chip 11, was also used to complete our suite of 10 microsatellite loci. After preliminary analyses of Hardy Weinberg equilibrium and null allele frequencies, we discarded 3 loci (Chip 14, Chip 204 and EaCh 7) that were problematic (on the basis of unreliable scoring, major departures from Hardy-Weinberg equilibrium and presence of null alleles) and thus worked with a final panel of seven microsatellite loci (see Table 1) for the remaining analyses. Microsatellite loci amplification was performed using a GeneAmp PCR System 9700 thermocycler (Applied Biosystems) and the 10 μ L reaction mixture recipes for each locus are provided in Table 2.

Table 1 Microsatellite loci details including the Genbank accession number, repeat motif, the allele size range in base pairs, the annealing temperature in degrees Celsius and the recipe for the polymerase chain reaction (see Table 2 for the recipe details). For Chip 11 a Genbank accession number is not available at this time.

Loci	Genbank accession number	Motif	Size range (bp)	Annealing temperature (C)	PCR recipe
Chip 5	EF175160	(AAAC) ₈	312-324	62	B
Chip 11	n/a	(AAAC) ₅	182-190	57	C
Chip 39	EF175159	(AAAC) ₇	114-138	60	D
EaCh 3	DQ973510	(AC) ₁₇	237-251	66	A
EaCh 4	DQ973511	(AC) ₁₀	259-285	66	A
EaCh 11	DQ973518	(GT) ₁₉	289-318	68	A
EaCh 12	DQ973519	(GT) ₁₂	289-311	62	A

Table 2 Polymerase chain reaction recipes (final volume of 10uL per sample) for the seven microsatellite loci used in this study.

Product	A (uL)	B (uL)	C (uL)	D (uL)
H ₂ O	3.04	2.78	2.64	2.9
dNTP	2	1.6	1.6	1.6
MgCl ₂	1.2	1.2	1.2	1.2
10X	0.8	0.8	0.8	0.8
BSA	--	0.5	0.5	0.5
Dye	0.36	0.36	0.36	0.26
CAG primer	0.2	0.16	0.4	0.24
B primer	0.2	0.4	0.4	0.4
Taq	0.2	0.2	0.1	0.1
DNA (5ng/mL)	2	2	2	2

PCR products were visualized using an AB 3130 capillary DNA sequencer (Applied Biosystems). Specifically, 0.1uL of 600 Liz (Applied Biosystems) internal size standard and

8.9 uL of Formamide Hi-Di (Applied Biosystems) were added to 1 uL of each PCR product. Allele size was scored using the software Genemapper version 4.0 (Applied Biosystems).

Microsatellite polymorphism analysis

Number of alleles, observed and expected heterozygosities were established for each locus with the software Cervus (version 3.0.3; Marshall *et al.* 1998; Kalinowski *et al.* 2007). Null alleles were also investigated with Cervus which calculates the frequency of null alleles using an iterative algorithm based on observed and expected frequencies of the different genotypes (Summers & Amos 1997). We then tested each locus for deviation from Hardy Weinberg equilibrium and for linkage disequilibrium with a randomization approach using the software FSTAT (version 2.9.3.2; Goudet 1995).

Genetic differentiation analyses

Given that the samples from our Ruiter Valley 1 site were collected over 3 years (2005, 2006 and 2007), we verified that there was temporal stability across years. Considering samples from different years as different populations we evaluated the genetic differentiation among years using the multilocus Weir & Cockerham (1984) estimator of F_{ST} implemented in FSTAT. As no significant differentiation was found between years (results not shown), data from all years for this site were pooled in our remaining analyses. In order to establish the pattern of genetic differentiation among the seven sampling sites across our study area, we computed both the global and pairwise F_{ST} indices.

To further assess genetic relationships between populations, we plotted an unrooted neighbor joining tree based on Cavalli-Sforza and Edwards' (1967) genetic distance calculations (D_{CE}) obtained using Phylip (version 3.68; Felsenstein 1989). Although this measure is not proportional to evolutionary time, it is insensitive to both fluctuations in population size and

mutation model and has been shown to perform most accurately in terms of identifying correct tree topology for intraspecific datasets (Nei & Takezaki 1996; Takezaki & Nei 1996).

Landscape genetic analyses

To identify the factors shaping genetic structure in this species we looked at linear geographic distance and potential barriers to gene flow. The presence of IBD was assessed using the Mantel test (Mantel 1967) implemented in FSTAT. If a significant relationship is found between a pairwise genetic differentiation matrix using linearized F_{ST} ($F_{ST} / (1 - F_{ST})$) (Rousset 1997) and a geographic distance matrix, this indicates that IBD is present among the sampling sites.

We used the software Barrier (version 2.2; Manni *et al.* 2004), which uses Monmonier's maximum difference algorithm, to identify putative locations of obstacles to gene flow within this study system. We used two approaches to identify likely barriers with this software. First, we ran the analysis using a pairwise F_{ST} matrix. Two criteria were used to gauge how strongly supported the identified barriers were: 1) the number of loci supporting the barrier when the analysis was run with each locus individually, and 2) whether the identified barrier was supported when the analysis was run with all the loci simultaneously (Manni *et al.* 2004). Our second approach employed Cavalli-Sforza & Edwards genetic distance matrices resulting from our resampled data set (10 000 times) generated using Seqboot from the Phylip software package (Felsenstein 1989). For this approach we used bootstrap support to gauge barrier robustness (Manni *et al.* 2004).

To investigate the impact of the identified barriers, we used Partial Mantel tests (implemented in FSTAT) to help establish the strength and significance of the partial correlation between the presence of the barriers, geographic distance and the pattern of genetic differentiation we observed. We thus tested if taking into consideration the presence of barriers provided

additional explained variation in comparison to the simple Mantel test that only included geographic distance as an explanatory variable.

Given the mounting evidence for the St. Lawrence River as a major barrier to gene flow (see results), we created two groups of sampling sites which we re-analyzed for IBD: 1) sites located north of the river: Algonquin Park, Gatineau Park, and Kenauk Reserve; 2) sites located south of the river: Mont St.-Hilaire, Orford Park, Ruitter Valley 1 & 2. We predicted that when no major barriers between sites exist, IBD might be an important determinant of genetic structure given that the area covered is much greater than the average dispersal distance for this species. We also used an analysis of molecular variance (AMOVA; implemented in Arlequin (version 3.1; Excoffier *et al.* 2005)) to further validate the separation of our sampling sites into groups based on the barriers identified previously. We predicted that if the barriers truly isolate groups of sites, a larger proportion of the variation in our data set would be the result of these large scale groupings than that of the divisions by sampling site.

Historical isolation

As an indication of the relative levels of historical isolation present throughout our sampling area, we tested whether pairwise R_{ST} was significantly larger than the equivalent F_{ST} values (as estimated using permuted values of R_{ST} (so-called pR_{ST}) which approximate the null distribution of F_{ST}) using SPAGeDi (version 1.2; Hardy & Vekemans 2002). A significantly greater R_{ST} than F_{ST} between two sites would indicate that stepwise mutations contributed considerably to the resulting population differentiation thus suggesting a greater isolation time among these sites compared to pairs of sites where F_{ST} and R_{ST} are found to be similar (Hardy *et al.* 2003).

Sex-biased dispersal

We used the Biased Dispersal function of FSTAT to compare the variance in assignment indices (v_{AI}), the mean assignment indices (mAI) and the F_{ST} values for males and females separately. If dispersal is sex-biased, we would expect a higher variance in assignment index, a lower mean assignment index and a lower F_{ST} , all suggesting a weaker genetic structure, for the more dispersing sex (Lawson Handley & Perrin 2007). Given that detection of sex-biased dispersal reaches maximum power for each of these measures under different combinations of dispersal rate, bias intensity and sampling scheme (Goudet *et al.* 2002), we tested all three measures at various geographic scales (global, north of St. Lawrence River and south of St. Lawrence River) to assess their performance at each of these scales.

RESULTS

Microsatellite loci analyses

A total of 572 individual chipmunks were genotyped (Table 3). The average number of alleles per locus was 8.43 (range: 3 to 13) (Table 3). Expected heterozygosity per locus per site ranged from 0 (EaCh 3 was monomorphic for Kenauk Reserve) to 0.848 for EaCh 11 at Ruitter Valley 2, whereas observed heterozygosity ranged from 0 (EaCh 3 – Kenauk Reserve) to 0.939 (EaCh 12 – Ruitter Valley 2). None of the locus pairs exhibited significant linkage disequilibrium after Bonferroni correction (Rice 1989). There were no locus-site combinations that exhibited departure from Hardy-Weinberg equilibrium after Bonferroni correction. Null alleles were found at low frequencies within our data (from 0-0.14) and were usually below 0.05.

Genetic differentiation analyses

The average between-site geographic distance in our study system was 211.9 km (range 0.6 – 482.1 km) (Table 4). The average F_{ST} among sites was 0.127 ± 0.035 . The highest and lowest pairwise differentiation were found between Gatineau Park and Mont St.-Hilaire (0.219), and between Ruitter Valley site 1 & 2 (0.001), respectively (Table 4).

The unrooted neighbor joining tree established based on the Cavalli-Sforza and Edwards genetic distance (D_{CE}) shows a main separation between the Mont St.-Hilaire, Orford Park, Ruitter Valley 1 & 2 sites and the Kenauk Reserve, Gatineau Park & Algonquin Park sites with 100% bootstrap support (Figure 2). This reflects a relatively large genetic distance between groups despite the fact that the geographic distance between the sites within a group are sometimes greater than the geographic distance between sites from different groups. This

Table 3 Sample sizes, heterozygosity and number of alleles for each locus at each sampling site. Sample size (F, M, ?): number of females, males and unknowns typed for each site; H_E : expected heterozygosity; H_O : observed heterozygosity; Alleles: number of alleles per sampling site.

Locus	Sample size (F, M, ?)	Algonquin Park	Gatineau Park	Kenauk Reserve	Mont St.-Hilaire	Orford Park	Ruiter Valley 1	Ruiter Valley 2
		57 (25, 26, 6)	72 (39, 32, 1)	17 (6, 9, 2)	41 (17, 13, 11)	69 (21, 46, 2)	282 (119, 160, 3)	34 (18, 14, 2)
Chip 5	H_E	0.6	0.61	0.66	0.34	0.35	0.32	0.38
	H_O	0.66	0.67	0.79	0.42	0.31	0.31	0.41
	Alleles	4	3	3	2	4	4	4
Chip 11	H_E	0.53	0.37	0.45	0.08	0.27	0.03	0.12
	H_O	0.61	0.44	0.53	0.08	0.26	0.03	0.12
	Alleles	3	2	2	2	2	2	2
Chip 39	H_E	0.7	0.59	0.75	0.39	0.33	0.38	0.47
	H_O	0.69	0.63	0.71	0.42	0.36	0.41	0.49
	Alleles	6	5	6	2	3	2	2
EaCh 3	H_E	0.51	0.23	0	0.63	0.59	0.55	0.62
	H_O	0.57	0.17	0	0.62	0.52	0.55	0.53
	Alleles	6	4	1	4	4	4	3
EaCh 4	H_E	0.78	0.71	0.59	0.58	0.59	0.72	0.71
	H_O	0.86	0.76	0.56	0.56	0.52	0.74	0.71
	Alleles	11	4	7	4	9	11	8
EaCh 11	H_E	0.84	0.58	0.68	0.84	0.84	0.82	0.85
	H_O	0.74	0.54	0.81	0.72	0.87	0.75	0.93
	Alleles	9	5	4	7	10	11	10
EaCh 12	H_E	0.48	0.6	0.39	0.75	0.81	0.81	0.83
	H_O	0.51	0.6	0.43	0.81	0.76	0.82	0.94
	Alleles	6	6	6	6	10	10	10

suggests the presence of a barrier to gene flow at this location. The next two highest clustering values were found, as expected, among sites with low genetic differentiation: Ruitter Valley 1 & 2 (96%) and Gatineau Park & Kenauk Reserve (84%) (Figure 2).

Table 4 Geographic distance and genetic differentiation between all pairs of sampling sites. Below the diagonal: linear geographic distances (obtained from ESRI ArcMap version 9.2) in kilometers between sites; above the diagonal: pairwise F_{ST} values between sampling sites, significant values in bold type.

	Algonquin Park	Gatineau Park	Kenauk Reserve	Mont St.-Hilaire	Mont Orford	Ruitter Valley 1	Ruitter Valley 2
Algonquin Park		0.058	0.044	0.184	0.177	0.196	0.153
Gatineau Park	203.5		0.039	0.219	0.206	0.217	0.199
Kenauk Reserve	277.6	83.7		0.213	0.183	0.204	0.177
Mont St.-Hilaire	408.6	208.1	131.6		0.033	0.037	0.036
Mont Orford	482.1	279.8	206.3	75.1		0.020	0.020
Ruitter Valley 1	470.8	267.3	199.5	75.8	32.4		0.001
Ruitter Valley 2	471.3	267.9	200.0	76.1	32.0	0.6	

Landscape genetic analyses

We first found that linear geographic distance explains 35.4 % of the genetic differentiation among sites, suggesting the presence of IBD in our study system (Figure 3). Given the large proportion of variation left unexplained by geographic distance, we used the software Barrier to help us identify sites between which there were abrupt genetic discontinuities that might be the result of obstacles to gene flow in the landscape. With our first approach using F_{ST} matrices (locus by locus and multilocus models), we were able to identify three likely barriers. The first barrier separated the Mont St.-Hilaire, Orford Park and Ruitter Valley 1 & 2 sites

from the Kenauk Reserve, Gatineau Park and Algonquin Park sites. This barrier was supported by 7 out of 7 individual loci tests as well as by the multilocus model.

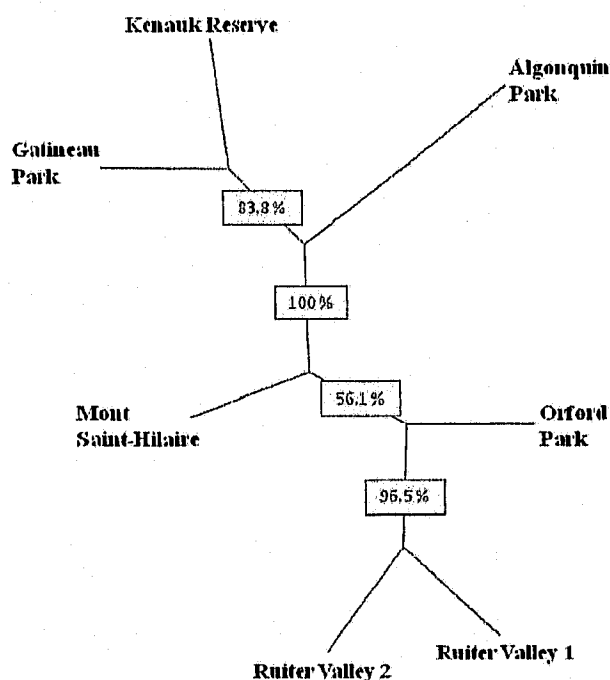


Figure 2 Neighbor joining tree depicting the relationships between the seven sampling sites obtained from Cavalli-Sforza and Edwards genetic distance (D_{CE}). Bootstrap support (%) is shown in grey boxes.

The second barrier was identified between Algonquin Park and the remaining 6 sites and was supported by 3 out of 7 loci as well as by the multilocus model. Overlain on the map (Figure 1), these barriers are consistent with the presence of the two major rivers that transect our study area, the St. Lawrence River and the Ottawa River, respectively. A third, although less strongly supported, barrier was identified between the Mont St.-Hilaire and Orford Park sampling sites and was supported by 2 out of 7 loci as well as by the multilocus model. Our second approach, using resampled Cavalli-Sforza & Edwards genetic distance matrices, identified the same three barriers as being the most likely. When the software was asked to identify a single barrier, the barrier corresponding to the St. Lawrence River was identified by

100% of bootstrap values. When the software was asked to identify a second barrier, the barrier corresponding to the Ottawa River was identified as second barrier by 69% of bootstrap values. When a third barrier was requested, the barrier isolating Mont St.-Hilaire was chosen as third barrier by 42% of bootstrap values.

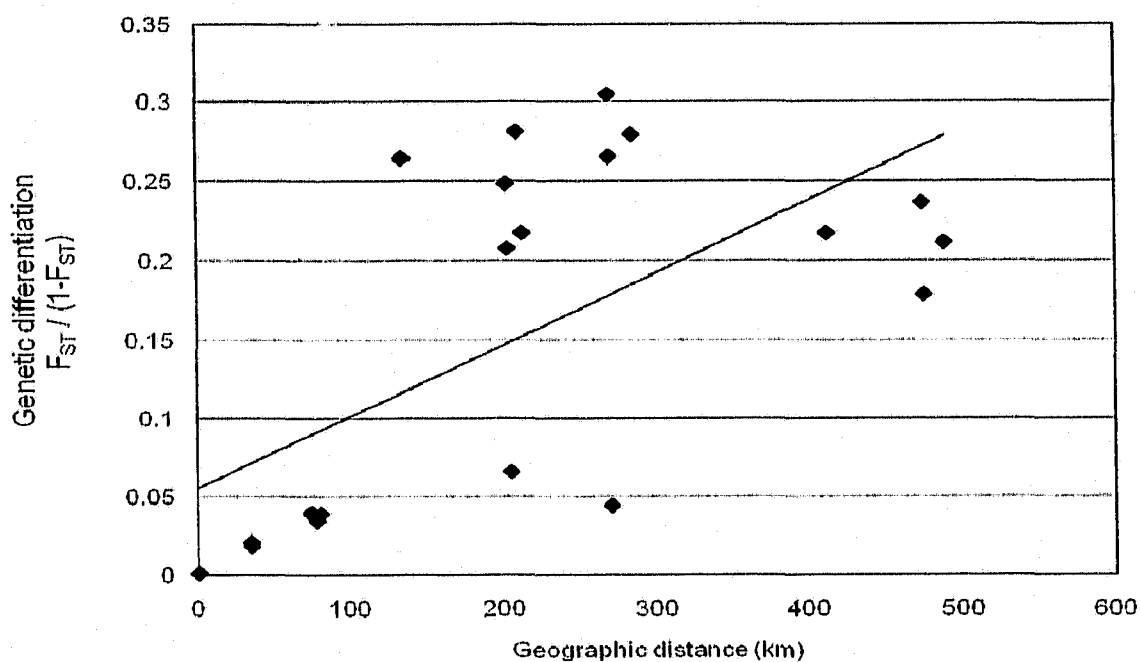


Figure 3 Isolation-by-distance graph showing the correlation between geographic distance and linearized F_{ST} ($r = 0.595$, slope = 0.0004, $P = 0.006$) among sites.

Given that there is only one sampling site south of the Ottawa River, we were unable to expand our analysis as to its impact on genetic structure. Furthermore, given our low sampling resolution, further quantitative analysis on the isolation of Mont St.-Hilaire by the third barrier is difficult. As such, the remainder of the analyses will focus only the presence of the St. Lawrence River and its effect on the pattern of genetic differentiation observed in this study system.

As a first step in determining the extent of the effect of the St. Lawrence River on the pattern of genetic differentiation observed, we used Partial Mantel tests correlating linearized F_{ST} with geographic distance and the presence of the St. Lawrence River. The results suggest that when we account for the presence of the St. Lawrence River, the IBD signal disappears completely, suggesting that the pattern of differentiation we observe is strongly dictated by the presence of the St. Lawrence River (Table 5).

Table 5 Mantel and Partial Mantel test results with the percentage variation explained by the model, correlation and partial correlation coefficients and associated *P*-values. The St. Lawrence River is abbreviated as StL in this table.

Test	Explanatory variable	Percentage variation explained	(Partial) Correlation coefficient	<i>P</i> -value
Mantel test (all sites)	Geographic distance	35.4	0.62	0.004
Mantel test (sites north of StL)	Geographic distance	53.1	0.73	0.50
Mantel test (sites south of StL)	Geographic distance	97.1	0.99	0.005
Partial Mantel test (all sites)	Presence of the StL between sites (Geographic distance)	95.2	0.77	<0.001
	Geographic distance (Presence of the StL)		-0.60	0.77

Given the evidence for the St. Lawrence River acting as a barrier to gene flow, we tested the subset of sites north and south of the river for an IBD pattern. When analyzing the group of sampling sites north of the St. Lawrence River, we found no significant IBD signal (Table 5). On the other hand, IBD was strong within the group of sites south of the St. Lawrence River (Table 5).

The previous results led us to consider separating our sites into two groups according to the side of the St. Lawrence River on which they are located. We tested whether this division was warranted using a multilocus hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA). This analysis revealed a significant among groups (north vs. south of St. Lawrence) variance component (11.5 % of total variance; Table 6), indicating that this additional level of hierarchy is almost three times as important as the among sites within groups underlying level (4.4%; Table 6).

Table 6 Analysis of molecular variance (AMOVA) calculated for three levels of hierarchy: among groups (groups of sampling sites north or south of St. Lawrence River), among sites within groups (individual sampling sites within north and south groups), and within sites.

Source of variation	Sum of squares	Variance components	Percentage variation	<i>P</i> -value
Among groups	156.41	0.30	11.5%	< 0.001
Among sites within groups	82.79	0.12	4.4%	< 0.001
Within sites	2521.61	2.22	84.1%	< 0.001
Total	2760.81	2.64		

Historical isolation

Results indicate significantly higher pairwise R_{ST} than pR_{ST} only for pairs of sampling sites separated by the St. Lawrence River (Table 7). Other comparisons between sites located on the same side of the St. Lawrence River showed no differences between R_{ST} and pR_{ST} , suggesting that the historical accumulation of stepwise-like mutations did not contribute significantly to the observed differentiation between these sites (Table 7).

Table 7 Signal of historical isolation between chipmunk sampling sites across southern Quebec and Ontario, Canada. Below the diagonal: observed R_{ST} values. Above the diagonal P -values obtained for the $R_{ST} - pR_{ST}$ comparisons. Significant values (in bold type) suggest the presence of historical isolation.

	Algonquin Park	Gatineau Park	Kenauk Reserve	Mont St.-Hilaire	Mont Orford	Ruiter Valley 1	Ruiter Valley 2
Algonquin Park		0.38	0.09	0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Gatineau Park	0.07		0.48	0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Kenauk Reserve	0.08	0.04		0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Mont St.-Hilaire	0.28	0.37	0.40		0.36	0.52	0.50
Mont Orford	0.39	0.45	0.47	0.05		0.75	0.26
Ruiter Valley 1	0.38	0.43	0.45	0.03	0.01		0.38
Ruiter Valley 2	0.34	0.41	0.40	0.04	0.02	-0.002	

Sex-biased dispersal

When conducting analyses over the entire geographical range of our sampling sites we found that male variance in assignment index was significantly greater than that of females (male $v_{AI} = 6.432$, female $v_{AI} = 4.680$, $P = 0.038$). Mean assignment index was higher for females than for males, but this difference was not significant (male $m_{AI} = -0.103$, female $m_{AI} = 0.126$, $P = 0.125$). F_{ST} comparisons revealed no significant differences in the level of genetic differentiation among sexes but still suggested a weaker structure for males than for females (male $F_{ST} = 0.121$, female $F_{ST} = 0.135$, $P = 0.346$) (Table 8).

Table 3 Sex-biased dispersal index values for male and female chipmunks. Mean assignment index (m_{AI}), variance in assignment index (v_{AI}) and F_{ST} values for all sites and for sites north and south of the St-Lawrence River respectively. Significant P -values (in bold) indicate a significant difference in index values between the sexes.

Site set	Number of populations	m_{AI}			v_{AI}			F_{ST}		
		♂	♀	P -value	♂	♀	P -value	♂	♀	P -value
All sites	7	-0.103	0.126	0.13	6.432	4.680	0.038	0.121	0.135	0.35
North	3	-0.119	0.114	0.27	6.115	4.021	0.042	0.031	0.060	0.08
South	4	-0.098	0.131	0.17	6.524	4.943	0.12	0.009	0.036	0.002

Again, given the evidence for the St. Lawrence being an important barrier to gene flow, we recalculated our indicators of sex-biased dispersal for sites north and south of the St. Lawrence separately. For sites north of the St. Lawrence River, v_{AI} was the only measure that differed between the sexes (male $v_{AI} = 6.115$, female $v_{AI} = 4.021$, $P = 0.042$). For sites south of the St. Lawrence, only F_{ST} values differed between the sexes (male $F_{ST} = 0.009$, female $F_{ST} = 0.036$, $P = 0.002$). All the other values also suggested male-biased dispersal but did not reach significance (Table 8).

DISCUSSION

The main objectives of this research were to characterize the population genetic structure of eastern chipmunks and identify its main determinants over a large heterogeneous study area. We found evidence for major rivers and geographic distance acting as important barriers to gene flow at large and smaller scales. We also detected a signal of male-biased gene flow at all scales considered.

Population differentiation

Levels of among population genetic differentiation reported in the literature are highly variable depending on the species of small mammal studied. For example, two studies, with inter-site geographic distances of 3 – 140 km and 5.5 – 92.4 km, respectively, found overall F_{ST} estimates of 0.015 for snowshoe hares (*Lepus americanus*) in Yukon, Canada (Burton *et al.* 2002) and of 0.041 for water voles (*Arvicola terrestris*) in France (Berthier *et al.* 2005). There is also evidence that even within a species F_{ST} values can differ greatly between locations for the same geographic distances. For example, in a study of the genetic structure of talar tuco-tucos (*Ctenomys talarum*), two regions sampled using the same grid layout (three localities arranged linearly with 3 km separating neighboring localities and 6 km separating the two most distant localities) reported very different estimates for each region (0.062 *versus* 0.236 depending on region; Cutrera *et al.* 2005). For studies conducted at larger scales, with inter-site distances similar or greater to those in our study, the results are variable as well. Examples of overall F_{ST} estimates include 0.167 for root voles (*Microtus oeconomus*) with sites spanning the Netherlands, Finland, Norway and France (Van de Zande *et al.* 2000) and 0.03 for Siberian lemmings (*Lemmus sibiricus*) across a large portion of Russian tundra (inter-site distances between 10 and 600 km) (Ehrich & Stenseth 2001). Our overall F_{ST} estimate of 0.127 thus seems to sit within the range of previously reported values for small mammals.

In a closely related species, the yellow pine chipmunk (*Tamias amoenus*), overall F_{ST} was estimated to be 0.036 among three populations separated by 6-18 km (Schulte-Hostedde *et al.* 2001). If we compare the pairwise F_{ST} estimate for the two most distant sites in that study (0.083 for 18 km) and for two of the closest sites presenting significant differentiation in our study (0.020 for 33 km), we notice that for similar distances our estimates are much lower (Table 4). This may reflect the fact that in Schulte-Hostedde *et al.*'s (2001) study, the sites were separated by several potential barriers to gene flow (*e.g.* rivers, mountains). Natal dispersal of eastern chipmunks has been reported to range from an average 85 m for females to 345 m for males (Loew 1999). Also, a previous study of eastern chipmunk population genetics using allozyme variation reported that significant genetic differentiation was detectable among sampling sites separated by greater than 1.5 km, but not among sites separated by less than 1.0 km (White & Svendsen 1992). Our two closest sites (Ruiter Valley 1 and 2), separated by 0.6 km, support this view as the genetic differentiation between them was very low ($F_{ST} = 0.001$; $R_{ST} = -0.002$) and not significant. Explaining why Gatineau Park and Kenauk Reserve are not significantly differentiated despite being separated by much more than 1.5 km is less evident. Given the geographic distance between these two sites is similar to that between the Mont St.-Hilaire and Orford Park sites (~83 km *versus* ~75 km) and that the levels of differentiation calculated are also very similar (pairwise $F_{ST} = 0.039$ *versus* 0.033), it is possible that the small number of samples collected at Kenauk Reserve ($N = 17$) was not sufficient to attain statistical significance.

Landscape genetic analyses

Isolation-by-distance

IBD is the expected pattern of genetic differentiation for studies whose spatial scales are larger than the average dispersal distance of the species studied (Wright 1943; Slatkin 1985). In the analysis using all our sampling sites, we found a significant correlation between genetic differentiation and geographic distance between sampling sites explaining 35% of the

variation in the data. Yet, when we furthered our investigation and took into account the St. Lawrence River with the partial Mantel test, we discovered that the IBD signal was no longer present. This suggests that the initial signal we detected was in fact driven by the underlying effect of the presence of the St. Lawrence River. This finding is a clear example emphasizing the importance of including major landscape features in analyses attempting to explain patterns of genetic structure in expanses of heterogeneous landscape. Trénel *et al.* (2008) also found a confounding effect of landscape features on their analyses of IBD in the wax palm (*Ceroxylon echinulatum*) but in the opposite direction. When they ignored the presence of the Andes and used linear geographic distance between sampling sites, no IBD signal was detectable ($r = -0.14$, $P = 0.669$). However, when they used a distance matrix that incorporated the presence of the Andes as a barrier to dispersal movements, a strong IBD signal emerged ($r = 0.90$, $P = 0.001$).

To look at the effect of geographic distance on genetic differentiation without the confounding effect of a barrier as large as the St. Lawrence River, we tested for IBD within the groups of sites north and south of this barrier. The northern group did not present significant IBD whereas the southern group did. The analysis of the northern group may have been affected by several factors rendering the interpretation of its results difficult: 1) there were only three sites present in this group; 2) we had evidence for the Ottawa River being a barrier to gene flow which could have affected the accurate detection of IBD; 3) Kenauk Reserve had very few individuals sampled; and 4) pairwise F_{ST} values varied little between the least and most differentiated pairs of sites in this group. Although we interpret the results of the analysis using only the southern sites with similar caution, we consider them more robust overall due to the larger number of sites, larger sample sizes per site and the absence of large scale barriers such as major rivers. At this scale, geographic distance explains 97% of the variation, suggesting that in the absence of major landscape barriers, geographic distance is a strong determinant of the observed pattern of genetic structure for this species.

Barriers to gene flow

Our data set allowed us to identify three potential barriers to gene flow in our study system, one of which was strongly reflected in all the analyses we performed: the St. Lawrence River. This barrier was by far the main driver of the pattern of population structure we observed for this species at a large scale and was strongly supported in all analyses performed. The second barrier we identified was also consistent with the location of a large river, the Ottawa River (Figure 1). Although the evidence for this barrier was not as strong as for the St. Lawrence River, the presence of a discontinuity at this location is well supported by both the barrier analyses and the branching pattern and bootstrap values of the neighbor joining tree (Figure 2). Rivers and other bodies of water have previously been investigated as natural landscape features shaping patterns of genetic structure with equivocal results (*e.g.* McLoughlin *et al.* 2004; Spear *et al.* 2005; Vignieri 2005). For example, Pérez-Espona *et al.*'s (2008) research on red deer (*Cervus elaphus*) revealed that different water bodies can either facilitate or restrict gene flow across a landscape. Inland lochs and rivers were shown to facilitate gene flow between sites whereas sea lochs were found to act as barriers to gene flow. Rivers may also differ in their strength as a barrier, as Cullingham *et al.* (2009) discovered when investigating gene flow across the Niagara and St. Lawrence rivers in raccoons (*Procyon lotor*). This study reports that despite being similar in terms crossing potential for raccoons, these rivers differ markedly in their permeability to gene flow, where the St. Lawrence River is highly permeable compared to the Niagara River (Cullingham *et al.* 2009). The authors propose that differences in density and dispersal behavior due to productivity of the habitat and landscape shape may contribute to the observed differences in permeability (Cullingham *et al.* 2009).

We also had evidence from the barrier analysis and the neighbor joining tree that the Mont St.-Hilaire sampling site was somewhat isolated from the other sites on the south shore. The landscape surrounding Mont St.-Hilaire has undergone major anthropogenic alterations over the last 300 years, with forest being converted to intensive agricultural fields over the last 40-50 years (Bélanger & Grenier 2002). By 1963, the forests around Mont St.-Hilaire were essentially non-existent as the land had been cleared for use in agricultural pursuits. From that

point on Mont St.-Hilaire has essentially been an island of old-growth forest isolated from other tracts of forest in the region (Canada MAB 2000). We surmise that this progressive isolation might contribute to the genetic distinctness of this site detected by our analyses. To date, there have been very few studies that explicitly verify and conclude that agricultural land use is a barrier to gene flow. A recent study by Lindsay *et al.* (2008) investigated the role of habitat fragmentation on the genetic structure of the forest-dwelling golden-cheeked warbler (*Dendroica chrysoparia*). They found a positive association between pairwise genetic differentiation and the percentage of agricultural land between sampling sites suggesting that agricultural land use can decrease gene flow between sites in a heterogeneous environment and induce population sub-structuring (Lindsay *et al.* 2008).

Historical isolation

By exploiting the different basic assumptions underlying F -statistics and R -statistics, we can gain insight as to whether it is the accumulation of stepwise mutations or genetic drift that has contributed primarily to the observed differentiation between pairs of sites (Hardy *et al.* 2003). When mutation is deemed the main contributor (*i.e.* $R_{ST} > pR_{ST}$), this suggests greater geographic isolation characterized by little or no migration between the sites and longer isolation times compared to pairs of sites for which genetic drift is the main contributor (*i.e.* $R_{ST} = pR_{ST}$). All pairs of sites separated by the St. Lawrence River showed values of $R_{ST} > pR_{ST}$, suggesting that this barrier carries a signal of long term geographic isolation permitting the accrual of stepwise mutations under little or no migration (*i.e.* mutation outweighs drift). The absence of this signal in comparisons performed between sites on the same side of the St. Lawrence River suggests greater gene flow between sites which considerably restricts the accumulation of mutations giving way to differentiation by means of genetic drift (Hardy *et al.* 2003).

Sex-biased dispersal

For eastern chipmunks, dispersal was previously studied using telemetry and trapping data. This research revealed that average dispersal distance for males was greater than that of females, thus implying male-biased dispersal for this species (Loew 1999). Our investigation confirms that this pattern holds when using differences in genetic structure patterns to detect sex-biased dispersal. In other words, the differences in movement patterns between the sexes reported by Loew (1999) seem to translate into effective dispersal where gene flow is sex-biased as well. Our system also allowed us to investigate in more detail the effects of geographic scale on the detection of sex-biased dispersal. The subsets of sites north and south of the St. Lawrence River present differences in the average pairwise geographic distance between sites. Inter-site distances north of the St. Lawrence River are very large, ranging from 83.7 km to 277.6 km (average = 188.3 km), compared to inter-site distances south of the St. Lawrence, which range from 0.6 km to 75.8 km (average = 48.7 km). This translates into a much lower potential dispersal rate between northern sites compared to southern sites. In Goudet *et al.*'s (2002) investigation of the effects of various parameters on the power of sex-biased dispersal detection, it is suggested that at lower dispersal rates, variance in assignment index (v_{AI}) is the most sensitive measure, whereas when higher dispersal rates are in effect, F_{ST} based measures become more sensitive. This is exactly the pattern we observed in our study system where sex-biased dispersal was detected by variance in assignment index in the northern subset of sites and by F_{ST} in the southern subset. Goudet *et al.*'s (2002) study also suggests that in cases where sampling is not exhaustive the sex bias must be important in order to be detected. Given our sampling was far from being exhaustive in most sites (as is usually the case under natural conditions) we might thus expect that sex-biased dispersal is very strong in our study system.

The results of this study provide the first large scale characterization of genetic differentiation and population structure for the eastern chipmunk including the identification of major landscape related barriers to gene flow and indirect (genetic) evidence for male-biased dispersal. The findings of our study also convey the importance of simultaneously taking into

account landscape elements and geographic distance, considering the scale at which determinants of genetic structure may act and using the correct measures to detect sex-biased dispersal based on the characteristics of a given sampling design.

Acknowledgements

We are grateful to the research assistants and graduate students who helped collect data in the field, to Albrecht Schulte-Hostedde for providing samples and to Méliissa Lieutenant-Gosselin for her help with laboratory work. This work was supported by a Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) Discovery Grant, by a New Researcher start-up program grant from the Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies (FQRNT), and by a FQRNT research team grant. We would also like to recognize McGill University for its commitment to the protection of the Gault Nature Reserve.

CONCLUSION

L'objectif de mon projet de recherche était d'identifier les déterminants du patron de structure génétique du tamia rayé en milieu naturel et hétérogène. Cette caractérisation à grande échelle de la structure génétique inclus à la fois l'établissement de la présence d'isolement par la distance, l'identification d'éléments du paysage comme barrières au flux génique et la vérification génétique de la présence de dispersion biaisée par le sexe chez cette espèce.

Génétique du paysage

J'ai détecté un niveau de structuration génétique globale qui se situe dans le même ordre de grandeur que les valeurs rapportées auparavant pour d'autres espèces de micromammifères (Ehrich et Stenseth, 2001 ; Van de Zande *et al.*, 2000). Il y avait une grande variabilité dans le niveau de différenciation génétique entre les paires de populations et toutes les comparaisons entre sites faisaient preuve d'une différenciation génétique significative, à l'exception des comparaisons entre la réserve Kenauk & le parc de la Gatineau et entre les deux sites de la Ruiter Valley Land Trust. La distance géographique entre les deux sites d'échantillonnage dans la Ruiter Valley Land Trust est très petite (0,57 km) et est comparable à la distance moyenne de dispersion (0,35 km) répertoriée pour les mâles de cette espèce (Loew, 1999). Ceci fait en sorte que ces deux sites d'échantillonnage ont le potentiel de s'échanger beaucoup de migrants, gardant ainsi un taux élevé de flux génique entre elles qui empêcherait la différenciation génétique.

Le premier élément du paysage pour lequel j'ai vérifié l'effet sur le patron de structure génétique était la distance linéaire entre les sites d'échantillonnage. Le test de Mantel a confirmé un patron d'isolement par la distance significatif expliquant 35% de la variation dans notre jeu de données. Étant donné la grande proportion de variation inexplicée par la distance géographique, j'ai tenté d'identifier des barrières au flux génique provenant du paysage.

L'algorithme de Monmônier utilisé par le logiciel Barrier et la méthode du "neighbor joining tree" ont repéré les trois mêmes barrières potentielles. Les deux barrières les plus fortement soutenu dans les analyses correspondaient aux deux rivières principales traversant l'aire d'étude: le fleuve St. Laurent et la rivière des Outaouais. La troisième barrière engendrait l'isolement du site Mont St.-Hilaire des autres sites au sud du fleuve St. Laurent.

Lorsque j'ai tenu compte simultanément de la présence du fleuve St. Laurent et de la distance géographique pour vérifier si, ensemble, ils expliquaient un pourcentage additionnel de la variabilité dans les valeurs de différenciation génétique (test partiel de Mantel), j'ai remarqué que le signal d'isolement par la distance disparaissait entièrement. En fait, le signal d'isolement par la distance que j'avais détecté auparavant était généré par l'effet sous-jacent du fleuve St. Laurent. Mes résultats montrent qu'il est primordial de considérer à la fois la distance géographique et la présence de barrières au flux génique dans le paysage pour correctement expliquer le patron de structure génétique observé.

Dispersion biaisée par le sexe

La dispersion biaisée par le sexe a précédemment été étudiée chez le tamia rayé avec des techniques de terrain traditionnelles telles que la télémétrie et le trappage (Loew, 1999). Cette étude a relevé un biais dans la dispersion où les mâles tendent à disperser plus loin du terrier natal que les femelles (345 m et 85 m, respectivement) (Loew, 1999). Notre évaluation des différences entre les patrons de structure génétique des mâles et des femelles vient appuyer génétiquement la présence d'une dispersion biaisée en faveur des mâles. La structure génétique des femelles est plus prononcée que celle des mâles, suggérant donc un flux génique entre les populations plus élevé pour ceux-ci.

Limitations du système d'étude et analyses complémentaires

La principale limitation de mon étude était la résolution spatiale des sites échantillonnés pour l'échelle géographique étudiée. Avec un plus grand nombre de sites situés de part et d'autre des barrières potentielles au flux génique, il aurait été possible d'approfondir les analyses de génétique du paysage. Par exemple, avec un échantillonnage de sites additionnels au sud et à l'ouest de la rivière des Outaouais et autour du Mont St.-Hilaire, mon pouvoir statistique aurait été amélioré et j'aurais donc été en mesure de mieux discerner l'effet de ces barrières sur la distribution de la variabilité génétique dans mon aire d'étude, comme j'ai pu le faire pour le fleuve St. Laurent. Le nombre d'échantillons serait également à augmenter pour la réserve Kenauk et le site Ruitter Valley 2 pour une certitude accrue des résultats obtenus pour les analyses de barrières. De plus, une caractérisation quantitative du type de paysage entre les sites (*e.g.* couvert forestier, terres agricoles, aires urbains) permettrait d'établir encore plus clairement l'effet de différents types de paysage sur la différenciation génétique observée entre les sites (voir l'étude de Lindsay *et al.*, 2008).

Finalement, la détection d'un signal d'isolement historique entre sites situés de part et d'autre du fleuve St. Laurent mérite d'être examinée plus profondément dans le contexte d'une étude effectuée par Rowe et ses collègues (2004) au sud des Grands Lacs. Les résultats de cette étude suggèrent la présence de plusieurs refuges glaciaires en Amérique du nord lors de la dernière période de glaciation, certains plus au nord que ceux détectés auparavant. Une interprétation possible du signal d'isolement historique détecté entre mes sites suggère la possibilité de colonisation post-glaciaire provenant de deux sources différentes. Étendre les analyses de Rowe *et al.* (2004) pour inclure mes sites d'échantillonnage pourrait éclaircir davantage les patrons de colonisation post-glaciaire pour cette espèce.

En conclusion, mon projet est la première étude de génétique du paysage chez le tamia rayé sur une grande échelle géographique et dans un milieu hétérogène. J'ai détecté des barrières au flux génique reliées à des éléments du paysage, telles que les rivières, et mes résultats

illustrent l'importance de considérer les éléments du paysage et la distance géographique comme déterminants du patron de structure génétique. Finalement, les résultats de mon évaluation de la dispersion biaisée par le sexe concordent avec les résultats des méthodes de terrain traditionnelles qui ont détecté une dispersion biaisée en faveur des mâles (Loew, 1999).

BIBLIOGRAPHIE

- Aljanabi, S.M., and Martinez, I. (1997). Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Res.* 25, 4692-4693.
- Altmann, J., Alberts, S.C., Haines, S.A., Dubach, J., Muruthi, P., Coote, T., Geffen, E., Cheesman, D.J., Mututua, R.S., Saiyalel, S.N., Wayne, R.K., Lacy, R.C., and Bruford, M.W. (1996). Behavior predicts genetic structure in a wild primate group. *Proc. Natl Acad. Sci. U. S. A.* 93, 5797-5801.
- Anderson, S.J., Fike, J.A., Dharmarajan, G., and Rhodes, O.E.J. (2006). Characterization of 12 polymorphic microsatellite loci for eastern chipmunks (*Tamias striatus*). *Mol. Ecol. Notes* 7, 513-515.
- Anthony, N.M., Johnson-Bawe, M., Jeffery, K., Clifford, S.L., Abernathy, K.A., Tutin, C.E., Lahm, S.A., White, L.J.T., Utley, J.F., Wickings, E.J., and Bruford, M.W. (2007). The role of Pleistocene refugia and rivers in shaping gorilla genetic diversity in central Africa. *Proc. Natl Acad. Sci U.S.* 104, 20432-20436.
- Balloux, F., and Lugon-Moulin, N. (2002). The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Mol. Ecol.* 11, 155-165.
- Bélanger, L., and Grenier, M. (2002). Agriculture intensification and forest fragmentation in the St. Lawrence valley, Québec, Canada. *Landscape Ecol.* 17, 495-507.
- Berthier, K., Galan, M., Foltête, J.C., Charbonnel, N., and Cosson, J.F. (2005). Genetic structure of the cyclic fossorial water vole (*Arvicola terrestris*) : landscape and demographic influences. *Mol. Ecol.* 14, 2861-2871.
- Blouin, M.S. (2003). DNA-based methods for pedigree reconstruction and kinship analysis in natural populations. *Trends Ecol. Evolut.* 18, 503-511.
- Blundell, G.M., Ben-David, M., Groves, P., Bowyer, R.T., and Geffen, E. (2002). Characteristics of sex-biased dispersal and gene flow in coastal River otters : implications for natural recolonization of extirpated populations. *Mol. Ecol.* 11, 289-303.
- Bohonak, A.J. (1999). Dispersal, gene flow and population structure. *Q. Rev. Biol.* 74, 21-45.
- Bowman, J., Phoenix, R.D., Sugar, A., Dawson, F.N., and Holborn, G. (2008). Spatial and temporal dynamics of small mammals at a regional scale in Canadian boreal forest. *J. Mammal.* 89, 381-387.

- Burton, C., Krebs, C.J., and Taylor, E.B. (2002). Population genetic structure of the cyclic snowshoe hare (*Lepus americanus*) in southwestern Yukon, Canada. *Mol. Ecol.* *11*, 1689-1701.
- Canada MAB (2000). Landscape changes at Canada's biosphere reserves. Environment Canada. Toronto, Canada.
- Castric, C., and Bernatchez, L. (2003). The rise and fall of isolation by distance in the anadromous brook charr. *Genetics* *163*, 983-996.
- Cavalli-Sforza, L.L., and Edwards, A.W.F. (1967). Phylogenetic analysis : models and estimation procedures. *Am. J. Hum. Genet.* *19*, 233-257.
- Clark, R.W., Brown, W.S., Stechert, R., and Zamudio, K.R. (2008). Integrating individual behaviour and landscape genetics : the population structure of timber rattlesnake hibernacula. *Mol. Ecol.* *17*, 719-730.
- Coulon, A., Cosson, J.F., Morellet, N., Angibault, J.M., Cargnelutti, B., Galan, M., Aulagnier, S., and Hewison, A.J.M. (2006). Dispersal is not female biased in a resource-defence mating ungulate, the European roe deer. *Proc. R. Soc. Lond. [Biol]* *273*, 341-348.
- Crispo, E., Bentzen, P., Reznick, D.N., Kinnison, M.T., and Hendry, A.P. (2006). The relative influence of natural selection and geography on gene flow in guppies. *Mol. Ecol.* *15*, 49-62.
- Cullingham, C.I., Kyle, C.J., Pond, B.A., Rees, E.E., and White, B.N. (2009). Differential permeability of rivers to raccoon gene flow corresponds to rabies incidence in Ontario, Canada. *Mol. Ecol.* *18*, 43-53.
- Cutrera, A.P., Lacey, E.A., and Busch, C. (2005). Genetic structure in a solitary rodent (*Ctenomys talarum*) : implications for kinship and dispersal. *Mol. Ecol.* *14*, 2511-2523.
- Dallimer, M., Blackburn, C., Jones, P.J., and Pemberton, J.M. (2002). Genetic evidence for male biased dispersal in the red-billed quelea *Quelea quelea*. *Mol. Ecol.* *11*, 529-533.
- Dewey, S.E., and Heywood, J.S. (1988). Spatial genetic structure in a population of *Psychotria nervosa*. I. Distribution of genotypes. *Evolution* *42*, 834-838.
- Ebert, D., Haag, C., Kirkpatrick, M., Riek, M., Hottinger, J.W., and Pajunen, V.I. (2002). A selective advantage to immigrant genes in a *Daphnia* metapopulation. *Science* *295*, 485-488.
- Ehrlich, D., and Stenseth, N.C. (2001). Genetic structure of Siberian lemmings (*Lemmus sibiricus*) in a continuous habitat : large patches rather than isolation by distance. *Heredity* *86*, 716-730.
- Ehrlich, P.R., and Raven, P.H. (1969). Differentiation of populations. *Science* *165*, 1228-1232.
- Elliott, L. (1978). Social behavior and foraging ecology of the eastern chipmunk (*Tamias striatus*) in the Adirondack mountains. *Smithson. Contrib. Zool.* *265*, 1-105.

- Eriksson, J., Hohmann, G., Boesch, C., and Vigilant, L. (2004). Rivers influence the population genetic structure of bonobos (*Pan paniscus*). *Mol. Ecol.* *13*, 3425-3435.
- Excoffier, L., Laval, G., and Schneider, S. (2005). Arlequin ver. 3.0 : An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform. Online* *1*, 47-50.
- Fahrig, L., and Merriam, G. (1994). Conservation of fragmented populations. *Conserv. Biol.* *8*, 50-59.
- Favre, L., Balloux, F., Goudet, J., and Perrin, N. (1997). Female-biased dispersal in the monogamous mammal *Crocidura russula* : evidence from field data and microsatellite patterns. *Proc. R. Soc. Lond. [Biol]* *264*, 127-132.
- Felsenstein, J. (1989). PHYLIP - Phylogeny Inference Package (Version 3.2). *Cladistics* *5*, 164-166.
- Fontanillas, P., Petit, E., and Perrin, N. (2004). Estimating sex-specific dispersal rates with autosomal markers in hierarchically structured populations. *Evolution* *58*, 886-894.
- Forsyth, D.J. and Smith, D.A. (1973). Temporal variability in home ranges of eastern chipmunks (*Tamias striatus*) in a southeastern Ontario woodlot. *Am. Midl. Nat.* *90*, 107-117.
- Garant, D., Forde, S.E., and Hendry, A.P. (2007). The multifarious effects of dispersal and gene flow on contemporary adaptation. *Funct. Ecol.* *21*, 434-443.
- Giordano, A.R., Ridenhour, B.J., and Storfer, A. (2007). The influence of altitude and topography on genetic structure in the long-toed salamander (*Ambystoma macrodactylum*). *Mol. Ecol.* *16*, 1625-1637.
- Goudet, J. (1995). FSTAT (vers. 1.2) : A computer program to calculate F-statistics. *J. Hered.* *86*, 485-486.
- Goudet, J., Perrin, N., and Waser, P. (2002). Tests for sex-biased dispersal using bi-parentally inherited genetic markers. *Mol. Ecol.* *11*, 1103-1114.
- Greenwood, P.J. (1980). Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Anim. Behav.* *28*, 1140-1162.
- Hammond, R.L., Lawson Handley, L.J., Winney, B.J., Bruford, M.W., and Perrin, N. (2006). Genetic evidence for female-biased dispersal and gene flow in a polygynous primate. *Proc. R. Soc. Lond. [Biol]* *273*, 479-484.
- Hardy, O.J., and Vekemans, X. (2002). SPAGeDi : A versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Mol. Ecol. Notes* *2*, 618-620.
- Hardy, O.J., Charbonnel, N., Freville, H., and Heuertz, M. (2003). Microsatellite allele sizes : A simple test to assess their significance on genetic differentiation. *Genetics* *163*, 1467-1482.

- Jarne, P., and Lagoda, P.J.L. (1996) Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends Ecol. Evolut.* *11*, 424-429.
- Jones, A.G., and Ardren, W.R. (2003). Methods of parentage analysis in natural populations. *Mol. Ecol.* *12*, 2511-2523.
- Kalinowski, S.T., Taper, M.L., and Marshall, T.C. (2007). Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol. Ecol.* *16*, 1099-1006.
- Keyghobadi, N., Roland, J., and Strobeck, C. (1999). Influence of landscape on the population genetic structure of the alpine butterfly *Parnassius smintheus* (Papilionidae). *Mol. Ecol.* *8*, 1481-1495.
- Kimura, M., and Crow, J.F. (1964). The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* *49*, 725-738.
- Kimura, M., and Ohta, T. (1978) Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.* *6*, 2868-2872.
- King, R.B., and Lawson, R. (1995). Color-pattern variation in Lake Erie water snakes : The role of gene flow. *Evolution* *49*, 885-896.
- Koenig, W.D., Van Vuren, D., and Hooge, P.N. (1996). Detectability, philopatry, and the distribution of dispersal distances in vertebrates. *Trends Ecol. Evolut.* *11*, 514-517.
- Kuehn, R., Hindenlang, K.E., Holzgang, O., Senn, J., Stoeckle, B., and Sperisen, C. (2006). Genetic effect of transportation infrastructure on roe deer populations (*Capreolus capreolus*). *J. Hered.* *98*, 13-22.
- Lada, H., MacNally, R., and Taylor, A.C. (2008a). Distinguishing past from present gene flow along and across a river : the case of the carnivorous marsupial (*Antechinus flavipes*) on southern Australian floodplains. *Conserv. Genet.* *9*, 569-580.
- Lada, H., Thomson, J.R., MacNally, R., and Taylor, A.C. (2008b). Impacts of massive landscape change on a carnivorous marsupial in south-eastern Australia : inferences from landscape genetics analysis. *J. Appl. Ecol.* *45*, 1732-1741.
- Lawson Handley, L.J., and Perrin, N. (2007). Advances in our understanding of mammalian sex-biased dispersal. *Mol. Ecol.* *16*, 1559-1578.
- Leblois, R., Rousset, F., Tikel, D., Moritz, C., and Estoup, A. (2000). Absence of evidence for isolation by distance in an expanding cane toad (*Bufo marinus*) population : an individual-based analysis of microsatellite genotypes. *Mol. Ecol.* *9*, 1905-1909.
- Lindsay, D.L., Barr, K.R., Lance, R.F., Tweddale, S.A., Hayden, T.J., and Leberg, P.L. (2008). Habitat fragmentation and genetic diversity of an endangered, migratory songbird, the golden-cheeked warbler (*Dendroica chrysoparia*). *Mol. Ecol.* *17*, 2122-2133.

- Loew, S. (1999). Sex-biased dispersal in eastern chipmunks, *Tamias striatus*. *Evol. Ecol.* 13, 557-577.
- Manel, S., Schwartz, M.K., Luikart, G., and Taberlet, P. (2003). Landscape genetics : combining landscape ecology and population genetics. *Trends Ecol. Evolut.* 18, 189-197.
- Manni, F., Guerard, E., and Heyer, E. (2004). Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation : how barriers can be detected by "Monmonier's algorithm". *Hum. Biol.* 76, 173-190.
- Mantel, M. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* 27, 209-220.
- Marshall, T.C., Slate, J., Kruuk, L.E.B., and Pemberton, J.M. (1998). Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol. Ecol.* 7, 639-655.
- McDonald, D.B., Potts, W.K., Fitzpatrick, J.W., and Woolfenden, G.E. (1999). Contrasting genetic structures in sister species of North American scrub-jays. *Proc. R. Soc. Lond. [Biol]* 266, 1117-1125.
- McLoughlin, P.D., Paetkau, D., Duda, M., and Boutin, S. (2004). Genetic diversity and relatedness of boreal caribou populations in western Canada. *Biol. Cons.* 118, 593-598.
- McNutt, J.W. (1996). Sex-biased dispersal in African wild dogs, *Lycaon pictus*. *Anim. Behav.* 52, 1067-1077.
- Merritt, J.F., Lima, M., and Bozinovic, F. (2001). Seasonal regulation in fluctuating small mammal populations : feedback structure and climate. *Oikos* 94, 505-514.
- Mills, S., Lunt, D.H., and Gomez, A. (2007). Global isolation by distance despite strong regional phylogeography in a small metazoan. *BMC Evol. Biol.* 7, 225-235.
- Möller, L.M., and Beheregaray, L.B. (2004). Genetic evidence for sex-biased dispersal in resident bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*). *Mol. Ecol.* 13, 1607-1612.
- Munro, D., Thomas, D.W., and Humphries, M.M. (2005). Extreme suppression of aboveground activity by a food-storing hibernator, the eastern chipmunk (*Tamias striatus*). *Can. J. Zool.* 86, 364-370.
- Nei, M., and Takezaki, N. (1996). The root of the phylogenetic tree of human populations. *Mol. Biol. Evol.* 13, 170-177.
- Ohta, T., and Kimura, M. (1973). A model of mutation appropriate to estimate the number of electrophoretically detectable alleles in a finite population. *Genet. Res.* 22, 201-204.
- Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, E., and Strobeck, C. (1995). Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Mol. Ecol.* 4, 347-354.

- Paetkau, D., Slade, R., Burdens, M., and Estoup, A. (2004). Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate : a simulation-based exploration of accuracy and power. *Mol. Ecol.* *13*, 55-65.
- Parker, P.G., Snow, A.A., Schug, M.D., Booton, G.C., and Fuerst P.A. (1998). What molecules can tell us about populations : choosing and using a molecular marker. *Ecology* *79*, 361-382.
- Pérez-Espona, S., Pérez-Barberia, F.J., McLeod, J.E., Jiggins, C.D., Gordon, I.F., and Pemberton, J.M. (2008). Landscape features affect gene flow of Scottish Highland red deer (*Cervus elaphus*). *Mol. Ecol.* *17*, 981-996.
- Peters, M.B., Glenn, J.L., Svete, P., Hagen, C., Tsyusko, O.V., DeCoursey, P., Lieutenant-Gosselin, M., Garant, D., and Glenn, T.C. (2007). Primer Note : Development and characterization of microsatellite loci in the eastern chipmunk (*Tamias striatus*). *Mol. Ecol. Notes* *7*, 877-879.
- Pogson, G.H., Mesa, K.A., and Boutilier, R.G. (1995). Genetic population structure and gene flow in the Atlantic cod, *Gadus morhua* : A comparison of allozyme and nuclear RFLP loci. *Genetics* *139*, 375-385.
- Pogson, G.H., Taggart, C.T., Mesa, K.A., and Boutilier, R.G. (2001). Isolation by distance in the Atlantic cod, *Gadus morhua*, at large and small geographic scales. *Evolution* *55*, 131-146.
- Rice, W.R. (1989). Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* *43*, 223-225.
- Rousset, F. (1997). Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics* *145*, 1219-1228.
- Rowe, K.C., Heske, E.J., Brown, P.W., and Paige, K.N. (2004). Surviving the ice : Northern refugia and postglacial colonization. *P.N.A.S.* *101*, 10355-10359.
- Schulte-Hostedde, A.I., Gibbs, H.L., and Millar, J.S. (2001). Microgeographic genetic structure in the yellow pine chipmunk (*Tamias amoenus*). *Mol. Ecol.* *10*, 1625-1631.
- Schweizer, M., Excoffier, L., and Heckel, G. (2007). Fine-scale genetic structure and dispersal in the common vole (*Microtus arvalis*). *Mol. Ecol.* *16*, 2463-2473.
- Selkoe, K.A., and Toonen, R.J. (2006). Microsatellites for ecologists : a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecol. Lett.* *9*, 615-629.
- Slatkin, M. (1985). Gene flow in natural populations. *Annu. Rev. Ecol. and Syst.* *16*, 393-430.
- Slatkin, M. (1987). Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* *236*, 787-792.
- Slatkin, M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* *139*, 457-462.

- Sork, V.L., Nason, J., Campbell, D.R., and Fernandez, J.F. (1999). Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. *Trends Ecol. Evolut.* *14*, 219-224.
- Spear, S.F., Peterson, C.R., Matocq, M.D., and Storfer, A. (2005). Landscape genetics of the blotched tiger salamander (*Ambystoma tigrinum melanostictum*). *Mol. Ecol.* *14*, 2553-2564.
- Storfer, A., Murphy, M.A., Evans, J.S., Goldberg, C.S., Robinson, S., Spear, S.F., Dezzani, R., Delmelle, E., Vierling, L., and Waits, L.P. (2007). Putting the 'landscape' in landscape genetics. *Heredity* *98*, 128-142.
- Summers, K., and Amos, W. (1997). Behavioral, ecological and molecular genetic analyses of reproductive strategies in the Amazonian dart-poison frog, *Dendrobates ventrimaculatus*. *Behav. Ecol.* *8*, 260-267.
- Takezaki, N., and Nei, M. (1996). Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics* *144*, 389-399.
- Taylor, P.D., Fahrig, L., Henein, K., and Merriam, G. (1993). Connectivity is a vital element of landscape structure. *Oikos* *68*, 571-573.
- Trénel, P., Hansen, M.M., Normand, S., and Borchsenius, F. (2008). Landscape genetics, historical isolation and cross-Andean gene flow in the wax palm, *Ceroxylon echinulatum* (Arecaceae). *Mol. Ecol.* *17*, 3528-3540.
- Van de Zande, L., Van Apeldoorn, R.C., Blijdenstein, A.F., de Jong, D., Van Delden, W., and Bijlsma, R. (2000). Microsatellite analysis of population structure and genetic differentiation within and between populations of the root vole, *Microtus oeconomus* in the Netherlands. *Mol. Ecol.* *9*, 1651-1656.
- Vignieri, S.N. (2005). Streams over mountains : influence of riparian connectivity on gene flow in the Pacific jumping mouse (*Zapus trinotatus*). *Mol. Ecol.* *14*, 1925-1937.
- Vitalis, R. (2002). Sex-specific genetic differentiation and coalescence times : estimating sex-biased dispersal rates. *Mol. Ecol.* *11*, 125-138.
- Waser, P.M., and Elliott, L.F. (1991). Dispersal and genetic structure in kangaroo rats. *Evolution* *45*, 935-943.
- Weber, J.L., and Wong, C. (1993) Mutation of human short tandem repeats. *Human Molec. Genet.* *2*, 1123-1128.
- Weir, B.S., and Cockerham, C.C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* *38*, 1358-1370.
- White, M.M., and Svendsen, G.E. (1992). Spatial-genetic structure in the eastern chipmunk, *Tamias striatus*. *J. Mammal.* *73*, 619-624.

Whitehead, H., Dillon, M., Dufault, S., Weilgart, L., and Wright, J. (1998). Non-geographically based population structure of South Pacific sperm whales : dialects, fluke-markings and genetics. *J. Anim. Ecol.* 67, 253-262.

Whitlock, M.C., and McCauley, D.E. (1999). Indirect measures of gene flow and migration $F_{ST} \approx 1/(4Nm+1)$. *Heredity* 82, 117-125.

Wolff, J.O. (1996). Population fluctuations of mast-eating rodents are correlated with production of acorns. *J. Mammal.* 77, 850-856.

Wright, S. (1943). Isolation by distance. *Genetics* 28, 114-138.

Wright, S. (1951). The genetical structure of populations. *A. Eug.* 15, 323-354.

Yahner, R.H. (1978). The adaptive nature of the social system and behavior in the eastern chipmunk, *Tamias striatus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 3, 397-427.