



Pêches et Océans
Canada

Fisheries and Oceans
Canada

Sciences des écosystèmes
et des océans

Ecosystems and
Oceans Science

Secrétariat canadien de consultation scientifique (SCCS)

Document de recherche 2020/051

Région du Centre et de l'Arctique

Diversité des haplotypes d'ADN mitochondrial du dard de rivière (*Percina shumardi*) dans les zones biogéographiques nationales d'eau douce du COSEPAC.

Scott M. Reid, Tim Haxton, et Anne McCarthy

Section de la recherche et de la surveillance en matière de pêche
Ministère des Richesses naturelles et des Forêts
DNA Building, Trent University
2140 East Bank Drive
Peterborough, Ontario K9J 7B8

Avant-propos

La présente série documente les fondements scientifiques des évaluations des ressources et des écosystèmes aquatiques du Canada. Elle traite des problèmes courants selon les échéanciers dictés. Les documents qu'elle contient ne doivent pas être considérés comme des énoncés définitifs sur les sujets traités, mais plutôt comme des rapports d'étape sur les études en cours.

Publié par :

Pêches et Océans Canada
Secrétariat canadien de consultation scientifique
200, rue Kent
Ottawa (Ontario) K1A 0E6

[http://www.dfo-mpo.gc.ca/csas-sccs/
csas-sccs@dfo-mpo.gc.ca](http://www.dfo-mpo.gc.ca/csas-sccs/csas-sccs@dfo-mpo.gc.ca)



© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, 2020
ISSN 2292-4272

La présente publication doit être citée comme suit :

Reid, S. M., Haxton, T., et McCarthy, A. 2020. Diversité des haplotypes d'ADN mitochondrial du dard de rivière (*Percina shumardi*) dans les zones biogéographiques nationales d'eau douce du COSEPAC. Secr. can. de consult. sci. du MPO. Doc. de rech. 2020/051. v + 15 p.

Also available in English :

Reid, S. M., Haxton, T., and McCarthy, A. 2020. River Darter (*Percina shumardi*) mitochondrial DNA haplotype diversity across COSEWIC National Freshwater Biogeographic Zones. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2020/051. v + 15 p.

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|-------------------------------|----|
| LISTE DES TABLEAUX | IV |
| LISTE DES FIGURES..... | IV |
| RÉSUMÉ | V |
| INTRODUCTION | 1 |
| MÉTHODES | 3 |
| COLLECTE D'ÉCHANTILLONS..... | 3 |
| Analyses en laboratoire | 3 |
| Analyse des données | 4 |
| RÉSULTATS..... | 4 |
| DISCUSSION..... | 12 |
| REMERCIEMENTS | 13 |
| RÉFÉRENCES CITÉES..... | 13 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|---|
| Table 1. Nombre d'échantillons (N), haplotypes détectés (HR), haplotypes uniques (HP), nombre réel d'haplotypes (Ne) et diversité génétique (He) des gènes <i>cyt-b</i> pour chaque population..... | 5 |
| Table 2. Nombre d'échantillons (N), haplotypes détectés (HR), haplotypes uniques (HP), nombre réel d'haplotypes (Ne) et diversité génétique (He) des gènes <i>CO1</i> pour chaque population..... | 5 |
| Table 3. Distribution des haplotypes du <i>cyt-b</i> dans les trois unités désignables (UD) du dard de rivière. Le nombre d'individus associé à chaque haplotype est indiqué..... | 6 |
| Table 4. Distribution des haplotypes du <i>cyt-b</i> dans les 14 plans d'eau où le dard de rivière est présent. Le nombre d'individus associé à chaque haplotype est indiqué..... | 7 |
| Table 5. Distribution des haplotypes de la <i>CO1</i> dans les trois unités désignables (UD) du dard de rivière. Le nombre d'individus associé à chaque haplotype est indiqué..... | 8 |
| Table 6. Distribution des haplotypes de la <i>CO1</i> dans les 14 plans d'eau où le dard de rivière est présent. Le nombre d'individus associé à chaque haplotype est indiqué. | 8 |
| Table 7. Mesures de la distance de Nei par paires pour les UD du dard de rivière, fondées sur les haplotypes du <i>cyt-b</i> (diagonale inférieure) et de la <i>CO1</i> (diagonale supérieure)..... | 9 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|---|----|
| Figure 1. Distribution des plans d'eau utilisée dans l'analyse de l'adNmt du dard de rivière. L'emplacement général de chaque unité désignable (UD) est indiqué sur la carte..... | 2 |
| Figure 2. Réseau de couverture minimale des séquences de cytochrome b identifiant chaque haplotype. Les codes des haplotypes correspondent aux résultats fournis dans les tableaux 3 et 5..... | 9 |
| Figure 3. Réseau de couverture minimale des séquences de <i>CO1</i> identifiant chaque haplotype. Les codes des haplotypes correspondent aux résultats fournis dans les tableaux 4 et 6..... | 10 |
| Figure 4. Diagramme de double projection des scores de l'analyse des principales composantes calculés pour chaque UD du dard de rivière à l'aide des haplotypes du <i>cyt-b</i> et des mesures de distance de Nei. L'axe 1 représente 85 % de la variation entre les UD et l'axe 2 représente 15 % de la variation..... | 10 |
| Figure 5. Diagramme de double projection des scores de l'analyse des principales composantes calculés pour chaque UD du dard de rivière à l'aide des haplotypes de la <i>CO1</i> et des mesures de distance de Nei. L'axe 1 représente 93 % de la variation entre les UD et l'axe 2 représente 6 % de la variation..... | 11 |
| Figure 6. Diagramme de double projection des scores de l'analyse des principales composantes calculés pour chaque plan d'eau où est présent le dard de rivière à l'aide des haplotypes du <i>cyt-b</i> et des mesures de distance de Nei. L'axe 1 représente 45 % de la variation entre les UD et l'axe 2 représente 32 % de la variation..... | 11 |
| Figure 7. Diagramme de double projection des scores de l'analyse des principales composantes calculés pour chaque plan d'eau où est présent le dard de rivière à l'aide des haplotypes de la <i>CO1</i> et des mesures de distance de Nei. L'axe 1 représente 79 % de la variation entre les UD et l'axe 2 représente 18 % de la variation..... | 12 |

RÉSUMÉ

Le dard de rivière (*Percina shumardi*) est un petit poisson benthique appartenant à la famille des perches (Percidae). Au Canada, l'espèce présente une aire de répartition continue dans la majeure partie du Manitoba, dans le Nord-ouest de l'Ontario dans le bassin versant du système rivière Saskatchewan-fleuve Nelson, ainsi que dans le bassin versant de la baie d'Hudson à l'Ouest de la baie James. Le dard de rivière est également présent dans le lac Sainte-Claire et ses affluents dans le Sud-ouest de l'Ontario. D'après les données probantes de discrétion et d'importance évolutive, les groupes de populations peuvent être évalués par le COSEPAC comme unités désignables (UD) distinctes. Dans le cas des poissons d'eau douce, la détermination des unités désignables s'est fondée sur les zones biogéographiques nationales d'eau douce (ZBNF) du COSEPAC et la structure génétique de la population. En se fondant sur une structure à trois UD, le COSEPAC a estimé que le statut du dard de rivière était Non en péril dans les zones rivière Saskatchewan-fleuve Nelson (UD1) et Sud de la baie d'Hudson-baie James (UD2) et En voie de disparition dans la zone Grands Lacs-Haut Saint-Laurent (UD3). Dans cette étude, les données sur les haplotypes de deux gènes d'ADN mitochondrial (cytochrome-b [cyt-b] et sous-unité 1 de la cytochrome oxydase [CO1]) ont été utilisées pour évaluer si la structure génétique de la population de dard de rivière correspondait aux trois ZBNF. L'évaluation était fondée sur : (i) la répartition des haplotypes uniques et communs; (ii) les relations phylogénétiques entre les haplotypes; (iii) les tests de distance et d'ordination de la structure des haplotypes. Cent quarante-neuf séquences des deux gènes d'ADN mitochondrial ont été utilisées dans l'analyse, représentant le dard de rivière de 14 plans d'eau. Au total, 29 haplotypes du cyt-b et 11 haplotypes de la CO1 ont été identifiés. D'après les haplotypes privés, le réseau de couverture minimale du cyt-b et l'analyse des principales composantes des données sur les haplotypes du cyt-b et de la CO1, la différenciation entre les populations de dard de rivière était la plus marquée entre l'UD3 et les deux UD de l'Ouest. Les données sur les haplotypes privés et l'analyse des principales composantes (cyt-b seulement) fournissent certaines preuves de différenciation entre l'UD1 et l'UD2. Ces interprétations sont largement influencées par des échantillons provenant de deux plans d'eau : le lac Badesdawa (UD2) et la rivière Thames (UD3). Des échantillons provenant d'autres populations de l'UD2 sont nécessaires pour assurer la solidité de la structure actuelle des UD.

INTRODUCTION

Le dard de rivière (*Percina shumardi*) est un petit poisson benthique allongé appartenant à la famille des perches (Percidae). Au Canada, l'espèce présente une aire de répartition continue dans la majeure partie du Manitoba, dans le Nord-ouest de l'Ontario dans le bassin versant du système rivière Saskatchewan-fleuve Nelson, ainsi que dans le bassin versant de la baie d'Hudson à l'Ouest de la baie James. Le dard de rivière se trouve également dans le lac Sainte-Claire et ses affluents dans le Sud-ouest de l'Ontario (Scott et Crossman 1973; Stewart et Watkinson 2004; Holm *et al.* 2009). Les prélèvements sur l'espèce proviennent principalement de cours d'eau de moyenne à grande taille aux courants modérés et aux eaux plus profondes, ou du rivage de plus grands lacs. Les renseignements les plus récents sur le régime alimentaire, les caractéristiques du cycle biologique, l'habitat, la répartition et l'abondance relative des populations canadiennes sont fournis par le COSEPAC (2016) et Pratt *et al.* (2016).

En 2016, le COSEPAC a évalué le statut des populations de dard de rivière canadiennes. D'après les données probantes de discrétion et d'importance évolutive, les groupes de populations peuvent être évalués comme unités désignables (UD) distinctes (COSEPAC 2015). Dans le cas des poissons d'eau douce, la détermination des unités désignables s'est fondée sur les zones biogéographiques nationales d'eau douce (ZBNF) du COSEPAC et la structure génétique de la population (*p. ex.* esturgeon jaune – COSEPAC 2017). Le statut du dard de rivière a été évalué en fonction de trois UD distinctes correspondant aux zones biogéographiques nationales d'eau douce (ZBNF). Les ZBNF du Canada ont été déterminées d'après les similitudes d'assemblages de poissons entre différents bassins hydrographiques (COSEPAC 2015). Chaque ZBNF représente une histoire biogéographique distincte associée à des provinces biogéographiques aux propriétés écologiques différentes. Les déplacements du dard de rivière entre les trois ZBNF sont limités, sauf dans le cas de la rivière Albany, au Sud de la baie d'Hudson, dans la ZBNF de la baie James, où une partie du débit sortant du lac Saint-Joseph est détournée depuis 1957 dans le bassin versant de la rivière Winnipeg par le lac Seul (COSEPAC 2016). En se fondant sur une structure à trois UD, il a été estimé que le statut du dard de rivière était *Non en péril* dans les zones rivière Saskatchewan-fleuve Nelson (UD1) et Sud de la baie d'Hudson-baie James (UD2) et *En voie de disparition* dans la zone Grands Lacs-Haut Saint-Laurent (UD3).

Le soutien génétique de la structure des UD du dard de rivière était fondé sur un examen préliminaire des haplotypes d'ADN mitochondrial (ADNmt) de 16 populations réparties dans les trois ZBNF (DFO 2015, figure 1). Contrairement aux marqueurs d'ADN microsatellites, on pense que la structure des populations entre les groupes déterminés d'après les marqueurs d'ADNmt à évolution plus lente reflète une divergence phylogénétique intraspécifique relativement importante (COSEPAC 2015). Les données sur les haplotypes ont été produites par séquençage de deux régions de l'ADNmt : la région de codage à barres de la sous-unité 1 de la cytochrome oxydase (CO1) et le cytochrome-b (cyt-b). D'après la répartition des haplotypes communs et uniques, on a constaté une répartition de la diversité des haplotypes dans au moins deux des zones biogéographiques (Saskatchewan-fleuve Nelson et Grands Lacs-Haut Saint-Laurent). Cependant, aucun test statistique n'a été effectué pour déterminer si la variation de l'haplotype d'ADNmt parmi les populations canadiennes était conforme à la structure des UD.

Avant l'évaluation du statut par le COSEPAC en 2016, l'analyse quantitative de la structure génétique des populations de dard de rivière a été reportée jusqu'à ce que d'autres échantillons puissent être obtenus. Le séquençage d'un plus grand nombre d'individus et de populations de l'UD2 et de l'UD3 a été recommandé lors de la réunion préalable à l'évaluation de l'espèce du COSEPAC de 2014 (DFO 2015). Les objectifs du séquençage supplémentaire étaient les

suivants : (i) fournir une évaluation plus solide de la structure proposée des UD et (ii) mieux comprendre si la dérivation des eaux du lac Saint-Joseph (dans le bassin hydrographique de la rivière Winnipeg) a entraîné un échange génétique entre les populations de l'UD1 et l'UD2.

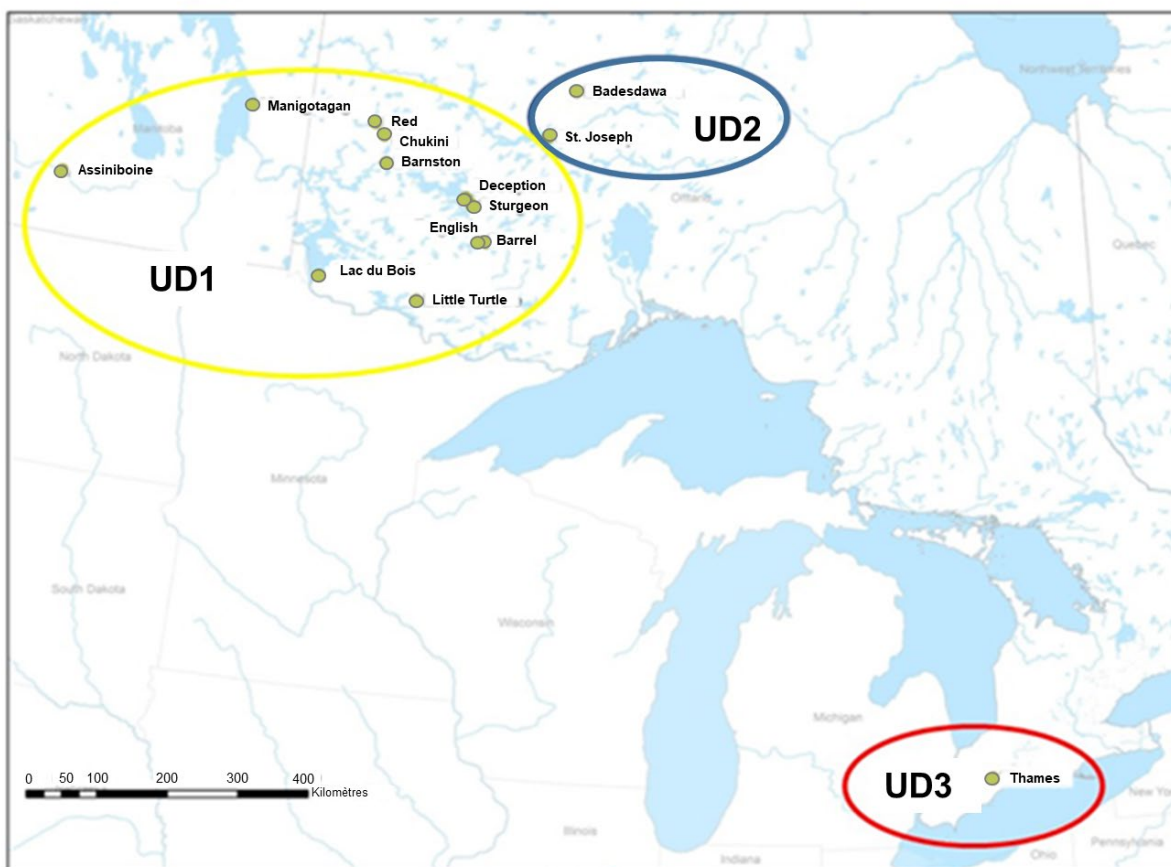


Figure 1. Distribution des plans d'eau utilisée dans l'analyse de l'ADNmt du dard de rivière. L'emplacement général de chaque unité désignable (UD) est indiqué sur la carte.

Dans le cadre de cette étude, les objectifs étaient les suivants :

1. Mettre à jour l'ensemble de données sur les haplotypes de l'ADNmt avec des échantillons supplémentaires de 2015 et 2016 des rivières Sydenham et Thames (UD3).
2. Caractériser la diversité des haplotypes d'ADNmt au sein des populations et des UD.
3. Vérifier si la structure génétique des populations de dard de rivière fondée sur l'ADNmt correspond aux trois ZBNF utilisées dans l'évaluation du statut par le COSEPAC.

Les résultats consolident la fiabilité de la structure des UD utilisée par le COSEPAC et orienteront les évaluations de faisabilité de l'amélioration et de la réintroduction des populations de dard de rivière dans le cadre des mesures de rétablissement (Mandrak 2018).

MÉTHODES

COLLECTE D'ÉCHANTILLONS

Trois collectes ont fourni des échantillons aux fins d'analyse génétique :

4. Relevés ciblés de Pêches et Océans Canada de 2012 à 2014 du dard de rivière au Manitoba et en Ontario (Pratt et al. 2016).
5. Relevés des poissons en péril de Pêches et Océans Canada de 2015 et 2016 dans les rivières Sydenham et Thames.
6. Échantillons archivés des rivières Sydenham et Thames provenant du Musée royal de l'Ontario (numéros d'accès : 5824, 6520 et 7499).

Le dard de rivière a été prélevé à l'aide de divers engins d'échantillonnage : senne, pêche à l'électricité en bateau et chalut de fond à mailles fines. En 2015 et 2016, le MPO a effectué un échantillonnage ciblé dans les rivières Sydenham et Thames à l'aide d'un chalut de fond à mailles fines et le ministère des Richesses naturelles et des Forêts (MRNF) a effectué un échantillonnage ciblé à l'aide d'une senne dans la rivière North Sydenham. Les équipes du MRNF qui échantillonnaient la communauté de poissons le long de la rivière Attawapiskat (UD2) ont également reçu l'ordre de conserver les échantillons de tissu prélevés sur le dard de rivière. Au total, des échantillons ont été prélevés dans 15 plans d'eau (tableau 1). Les échantillons provenant de populations à l'extérieur du Canada n'ont pas été inclus dans l'analyse.

Analyses en laboratoire

Entre 1 et 25 individus de chaque population (tableau 1) ont été séquencés pour les régions ADNmt de la CO1 (524 paires de bases) et le cyt-b (926 paires de bases) (Song *et al.* 1998, Ward *et al.* 2005). Les deux régions de l'ADNmt ont été largement utilisées pour élaborer des marqueurs d'identification des espèces de poissons et pour étudier les lignées évolutives des poissons d'eau douce. Le nombre moyen d'individus séquencés était de 9,9 par population (tableaux 1 et 2).

L'ADNmt a été extrait par simple précipitation d'isopropanol (Kyle et Wilson 2007; Wozney *et al.* 2011). La quantité et la qualité de l'ADN ont été évaluées par électrophorèse horizontale sur des gels d'agarose à 1,5 % et des échelles de masse moléculaire. Des solutions fonctionnelles de matrices d'ADN ont été préparées à l'aide d'une dilution à 1:30 d'ADN du stock avec du ddH₂O.

Des réactions en chaîne de la polymérase (PCR) ont été effectuées dans des réactions de 10 µL contenant 2 µL de matrice d'ADN (6-12 ng). Le cocktail PCR de cyt-b comprenait également 2 µL de tampon PCR 5 x concentré, 1 µL d'albumine bovine (0,2 µg/mL), 0,2 µL de MgCl₂ (25 mM), 0,2 µL de dNTP (10 mM), 0,2 mM de chaque amorce (10 µM) et 0,05 µL de Taq polymérase (0,25 U). Le cocktail de CO1 comprenait également 2 µL de tampon PCR 5 x concentré, 0,2 µL de MgCl₂ (25 mM), 0,2 µL de dNTP (10 mM), 0,2 mM de chaque amorce (10 µM) et 0,05 µL de Taq polymérase (0,25 U). La réaction d'amplification a utilisé une dénaturation initiale de 94° C (10 min), suivie de 35 cycles à 94° C (45 sec), 50° C (cyt-b)/54° C (CO1) (60 sec), 72° C (60 sec), avec une extension finale de 72 °C (20 min). La quantité et la qualité de l'ADN amplifié ont été évaluées par électrophorèse horizontale sur des gels d'agarose à 1,5 % et des échelles de masse moléculaire. Un nettoyage ExoSAP (New England Biolabs, Pickering, Ontario) a été effectué sur tous les produits amplifiés pour éliminer les amorces en excès : 0,9 µL de tampon de phosphatase antarctique, 0,1 µL de phosphatase antarctique et 0,03 µL d'exonucléase I ont été ajoutés à chaque volume de 8 µL de produit

amplifié, puis le tout a été incubé à 37°C pendant 15 minutes, à 80 °C pendant 15 minutes et ensuite refroidis à 10 °C.

Les produits amplifiés propres ont été séquencés dans les deux sens en suivant la trousse pour séquençage du cycle de terminaison ABI BigDye v3.1 (Applied Biosystems, Foster City, Californie). Le produit séquencé a été nettoyé par précipitation à l'éthanol (EtOH). Pour chaque volume de 12 µL de produit séquencé, 1,2 µL d'acétate de sodium 5M et 37 µL d'EtOH à 95 % ont été ajoutés, mélangés délicatement et remués pendant 45 minutes à 6 200 tr/min. Un surnageant a été versé et 150 µL d'EtOH à 70 % ont été ajoutés, puis le produit a été remué pendant 45 minutes supplémentaires à 6 200 tr/min. Le surnageant a été retiré et l'EtOH résiduel s'est évaporé. Le produit propre et séquencé a été élué dans 10 µL de formamide HiDi (Applied Biosystems, Foster City, Californie). Le produit amplifié a été visualisé sur un séquenceur AB 3730. Les séquences ont été analysées à l'aide de Sequencher 4.9 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, Michigan) et confirmées par relecture manuelle.

Analyse des données

Le soutien génétique de la structure des UD du dard de rivière du COSEPAC a été évalué par :

1. l'examen de la fréquence et de la distribution des haplotypes propres à chaque UD (haplotypes uniques) et des haplotypes trouvés dans plusieurs UD (haplotypes communs);
2. l'établissement de réseaux de couverture minimale pour examiner les relations phylogénétiques entre les haplotypes;
3. l'utilisation de tests de distance et d'ordination de la structure des haplotypes.

Toutes les analyses ont été effectuées séparément pour les séquences de CO1 et de cyt-b.

Haplotype Analysis v10.5 (Eliades et Eliades 2009) a été utilisé pour résumer les données sur les haplotypes, y compris le nombre réel d'haplotypes (N_e) et la diversité génétique (H_e). D'autres analyses génétiques ont été effectuées dans R (R Core Team 2014) à l'aide de la trousse « [haplotypes](#) » (dernier accès le 6 novembre 2018). Les haplotypes ont été identifiés à partir de séquences d'ADN à l'aide de la fonction « haplotype ». Des UD présumés et des plans d'eau ont été attribués à chaque échantillon. Des résumés des haplotypes ont été produits par plan d'eau et par DU présumé. La diversité génétique a été calculée pour les populations comptant au moins cinq individus séquencés. La richesse en haplotypes (H_R) a été définie comme le nombre d'haplotypes séquencés d'une population. Les estimations de la richesse à l'aide de méthodes fondées sur la raréfaction n'ont pas donné de bons résultats.

Les réseaux représentant les relations phylogénétiques entre les haplotypes ont été estimés à partir de données de séquençage en utilisant la parcimonie statistique avec la fonction « parsimnet », la méthode de codage indel égal 'sic' et une estimation de probabilité de 0,95. À l'aide des données sur les haplotypes, la structure de la population du dard de rivière a été caractérisée en utilisant des méthodes fondées sur la distance et l'ordination. La distance de Nei, qui fournit le nombre moyen de différences de Nei (D) par paires entre les populations, a été calculée en utilisant la fonction « pairnei ». Enfin, l'analyse des principales composantes a été réalisée en fonction des UD, puis des plans d'eau à l'aide de la fonction « pcoa » dans la trousse R « ape » (Paradis et Schliep 2019).

RÉSULTATS

Le nombre total de séquences obtenues pour le cyt-b et la CO1 était de 149 (tableaux 1 et 2). La diversité des haplotypes de cyt-b du dard de rivière était supérieure à celle des haplotypes de la CO1. Dans l'ensemble, 29 haplotypes de cyt-b ont été identifiés et regroupés par UD

(tableau 3) et par plan d'eau (tableau 4). Onze haplotypes de la CO1 ont été identifiés et regroupés par UD (tableau 5) et par plan d'eau (tableau 6). Le nombre moyen d'haplotypes par population était de 3,4 pour le *cyt-b* et de 1,9 pour la CO1; le nombre moyen d'haplotypes réels était de 2,1 pour le *cyt-b* et de 1,2 pour la CO1; la diversité génétique moyenne était de 0,6 pour le *cyt-b* et de 0,2 pour la CO1 (tableaux 1 et 2). La richesse en haplotypes du dard de rivière différait d'une UD à l'autre, le plus grand nombre d'haplotypes du *cyt-b* et de la CO1 étant obtenu à partir des échantillons de l'UD1. Avec le plus petit nombre d'individus séquencés, les échantillons de l'UD3 ont produit le moins d'haplotypes (tableaux 3 et 5). Les échantillons de la rivière Sydenham n'ont pas été correctement séquencés et n'ont donc pas été inclus dans l'analyse.

Tableau 1. Nombre d'échantillons (*N*), haplotypes détectés (*H_R*), haplotypes uniques (*H_P*), nombre réel d'haplotypes (*N_e*) et diversité génétique (*H_e*) des gènes *cyt-b* pour chaque population.

| UD | Population | N | H _R | H _P | N _e | H _e |
|----|---------------------|----|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 1 | Rivière Assiniboine | 16 | 4 | 1 | 2.37 | 0.62 |
| 1 | Lac Barnston | 1 | 1 | 0 | 1.00 | - |
| 1 | Lac Barrel | 1 | 1 | 0 | 1.00 | - |
| 1 | Lac Chukini | 5 | 2 | 0 | 1.47 | 0.40 |
| 1 | Baie Déception | 1 | 1 | 0 | 1.00 | - |
| 1 | Rivière English | 14 | 7 | 5 | 3.38 | 0.76 |
| 1 | Lac des Bois | 10 | 6 | 2 | 4.17 | 0.84 |
| 1 | Lac Little Turtle | 1 | 1 | 1 | 1.00 | - |
| 1 | Rivière Manigotagan | 25 | 7 | 2 | 4.31 | 0.80 |
| 1 | Lac Red | 1 | 1 | 1 | 1.00 | - |
| 1 | Rivière Sturgeon | 17 | 3 | 1 | 1.44 | 0.32 |
| 2 | Lac Badesdawa | 24 | 6 | 4 | 2.44 | 0.62 |
| 2 | Lac Saint-Joseph | 23 | 3 | 1 | 1.19 | 0.17 |
| 3 | Rivière Thames | 9 | 5 | 4 | 3.86 | 0.83 |

Tableau 2. Nombre d'échantillons (*N*), haplotypes détectés (*H_R*), haplotypes uniques (*H_P*), nombre réel d'haplotypes (*N_e*) et diversité génétique (*H_e*) des gènes CO1 pour chaque population.

| UD | Population | N | H _R | H _P | N _e | H _e |
|----|---------------------|----|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 1 | Rivière Assiniboine | 16 | 2 | 1 | 1.13 | 0.13 |
| 1 | Lac Barnston | 1 | 1 | 0 | 1 | - |
| 1 | Lac Barrel | 1 | 1 | 0 | 1 | - |
| 1 | Lac Chukini | 5 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 1 | Baie Déception | 1 | 1 | 0 | 1 | - |
| 1 | Rivière English | 14 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 1 | Lac des Bois | 10 | 2 | 0 | 1.22 | 0.20 |
| 1 | Lac Little Turtle | 1 | 1 | 0 | 1 | - |
| 1 | Rivière Manigotagan | 25 | 6 | 4 | 1.86 | 0.48 |
| 1 | Lac Red | 1 | 1 | 0 | 1 | - |
| 1 | Rivière Sturgeon | 18 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 2 | Lac Badesdawa | 24 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 2 | Lac Saint-Joseph | 23 | 4 | 3 | 1.31 | 0.25 |
| 3 | Rivière Thames | 9 | 3 | 1 | 2.79 | 0.72 |

Pour chaque UD du dard de rivière, 4 à 17 haplotypes uniques du *cyt-b* et 1 à 4 haplotypes uniques de la CO1 ont été identifiés (tableaux 3 et 5). Les haplotypes uniques du *cyt-b* et de la

CO1 étaient associés à 20 % des individus séquencés et à 5 % des individus séquencés, respectivement. Plusieurs haplotypes uniques du *cyt-b* ont été identifiés dans cinq populations : lac Badesdawa (UD2), rivière English (UD1), lac des Bois (UD1), rivière Manigotagan (Manitoba) (UD1) et rivière Thames (UD3). Plusieurs haplotypes uniques de la CO1 ont été identifiés dans deux populations : rivière Manigotagan (UD1) et lac Saint-Joseph (Ontario) (UD2) (tableaux 4 et 6). Quatre haplotypes du *cyt-b* et deux haplotypes de la CO1 étaient communs aux trois UD du dard de rivière (tableaux 3 et 5). Trois haplotypes du *cyt-b* étaient présents dans les échantillons de l'UD1 et de l'UD2.

Tableau 3. Distribution des haplotypes du *cyt-b* dans les trois unités désignables (UD) du dard de rivière. Le nombre d'individus associé à chaque haplotype est indiqué.

| Haplotype | UD | | |
|-----------|----|----|---|
| | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 42 | 21 | 3 |
| 2 | 20 | 0 | 0 |
| 3 | 5 | 0 | 0 |
| 4 | 1 | 0 | 0 |
| 5 | 4 | 1 | 0 |
| 6 | 1 | 0 | 0 |
| 7 | 4 | 1 | 0 |
| 8 | 1 | 0 | 0 |
| 9 | 0 | 6 | 0 |
| 10 | 0 | 1 | 0 |
| 11 | 1 | 14 | 0 |
| 12 | 0 | 1 | 0 |
| 13 | 0 | 1 | 0 |
| 14 | 1 | 0 | 0 |
| 15 | 1 | 0 | 0 |
| 16 | 1 | 0 | 0 |
| 17 | 1 | 0 | 0 |
| 18 | 1 | 0 | 0 |
| 19 | 1 | 0 | 0 |
| 20 | 2 | 0 | 0 |
| 21 | 1 | 0 | 0 |
| 22 | 0 | 1 | 0 |
| 23 | 1 | 0 | 0 |
| 24 | 1 | 0 | 0 |
| 25 | 2 | 0 | 0 |
| 26 | 0 | 0 | 3 |
| 27 | 0 | 0 | 1 |
| 28 | 0 | 0 | 1 |
| 29 | 0 | 0 | 1 |

Tableau 4. Distribution des haplotypes du *cyt-b* dans les 14 plans d'eau où le dard de rivière est présent. Le nombre d'individus associé à chaque haplotype est indiqué.

| Haplotype | UD1 | | | | | | | | | | | UD2 | | UD3 |
|-----------|---------------------|--------------|------------|-------------|----------------|-----------------|--------------|-------------------|---------------------|---------|------------------|---------------|------------------|----------------|
| | Rivière Assiniboine | Lac Barnston | Lac Barrel | Lac Chukini | Baie Déception | Rivière English | Lac des Bois | Lac Little Turtle | Rivière Manigotagan | Lac Red | Rivière Sturgeon | Lac Badesdawa | Lac Saint-Joseph | Rivière Thames |
| 1 | 5 | 0 | 0 | 4 | 1 | 7 | 2 | 0 | 9 | 0 | 14 | 0 | 21 | 3 |
| 2 | 9 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 11 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 14 | 0 | 0 |
| 12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 17 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 18 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 22 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 23 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 26 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| 27 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 28 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 29 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

Tableau 5. Distribution des haplotypes de la CO1 dans les trois unités désignables (UD) du dard de rivière. Le nombre d'individus associé à chaque haplotype est indiqué.

| Haplotype | UD | | |
|-----------|----|----|---|
| | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 83 | 44 | 4 |
| 2 | 1 | 0 | 0 |
| 3 | 4 | 0 | 3 |
| 4 | 1 | 0 | 0 |
| 5 | 1 | 0 | 0 |
| 6 | 1 | 0 | 0 |
| 7 | 1 | 0 | 0 |
| 8 | 0 | 1 | 0 |
| 9 | 0 | 1 | 0 |
| 10 | 0 | 1 | 0 |
| 11 | 0 | 0 | 2 |

Tableau 6. Distribution des haplotypes de la CO1 dans les 14 plans d'eau où le dard de rivière est présent. Le nombre d'individus associé à chaque haplotype est indiqué.

| Haplotype | UD1 | | | | | | | | | | | UD2 | | UD3 |
|-----------|---------------------|--------------|------------|-------------|----------------|-----------------|--------------|-------------------|---------------------|---------|------------------|---------------|------------------|----------------|
| | Rivière Assiniboine | Lac Barnston | Lac Barrel | Lac Chukini | Baie Déception | Rivière English | Lac des Bois | Lac Little Turtle | Rivière Manigotagan | Lac Red | Rivière Sturgeon | Lac Badesdawa | Lac Saint-Joseph | Rivière Thames |
| 1 | 15 | 1 | 1 | 5 | 1 | 14 | 9 | 1 | 18 | 1 | 17 | 24 | 20 | 4 |
| 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |

Tableau 7. Mesures de la distance de Nei par paires pour les UD du dard de rivière, fondées sur les haplotypes du *cyt-b* (diagonale inférieure) et de la *CO1* (diagonale supérieure).

| | UD 1 | UD 2 | UD 3 |
|------|------|------|------|
| UD 1 | - | 0.24 | 0.97 |
| UD 2 | 1.92 | - | 0.97 |
| UD 3 | 3.27 | 3.83 | - |

Des réseaux d'haplotypes ont été construits pour chaque région d'ADNmt (figures 2 et 3). Le réseau *cyt-b* était plus complexe que le réseau *CO1*, avec un nombre maximal plus élevé d'étapes de connexion (mutations ou substitutions d'ADN) séparant les haplotypes individuels (*cyt-b* = 47; *CO1* = 12). Certains des nœuds les plus développés du réseau *cyt-b* reflètent l'emplacement géographique des haplotypes individuels du dard de rivière. Les haplotypes 6 et 8 ont été séquencés uniquement à partir d'échantillons prélevés dans la rivière Manigotagan (plan d'eau UD1 au Manitoba). Les haplotypes 10, 11, 12 et 13 ont été presque entièrement séquencés à partir d'échantillons du lac Badesdawa (plan d'eau UD2 dans le Nord-ouest de l'Ontario). Enfin, les haplotypes 26, 27, 28 et 29 ont été séquencés uniquement à partir d'échantillons du Sud-ouest de l'Ontario (UD3). Aucune tendance liée aux plans d'eau et aux haplotypes n'était évidente dans le réseau *CO1*.

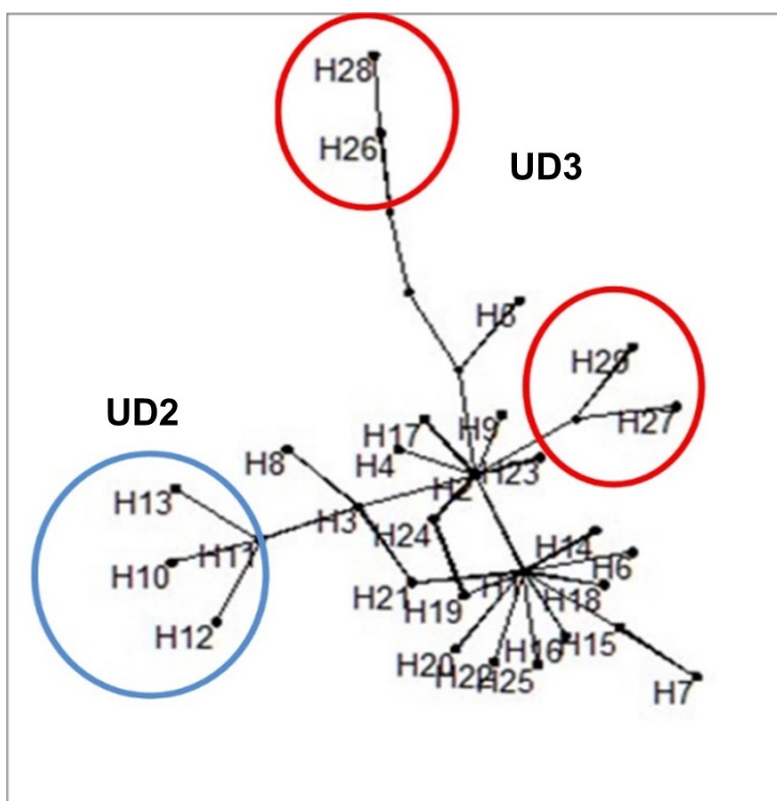


Figure 2. Réseau de couverture minimale des séquences de cytochrome *b* identifiant chaque haplotype. Les codes des haplotypes correspondent aux résultats fournis dans les tableaux 3 et 5.

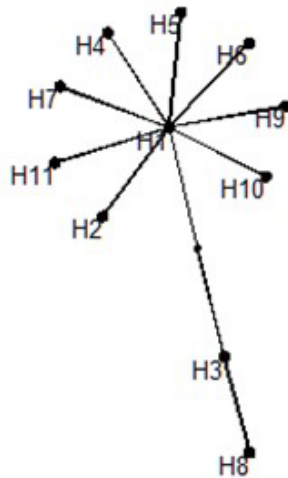


Figure 3. Réseau de couverture minimale des séquences de CO1 identifiant chaque haplotype. Les codes des haplotypes correspondent aux résultats fournis dans les tableaux 4 et 6.

L'UD3 était l'unité désignable du dard de rivière la plus différente d'après les estimations de la distance de Nei pour les régions *cyt-b* et CO1 (tableau 7). Lorsque les échantillons sont regroupés par UD, les diagrammes de double projection de l'analyse des principales composantes indiquent que les UD sont distinctes (figures 4 et 5); la séparation de l'UD3 et des deux autres UD est évidente le long du premier axe, et la séparation de l'UD1 et de l'UD2 est évidente le long du second axe. Lorsque les échantillons sont regroupés par plan d'eau, les échantillons de la rivière Thames (UD3) sont différents des autres plans d'eau. Cependant, la séparation entre les groupes de plans d'eau UD1 et UD2 n'est pas apparente (figures 6 et 7). Au sein de l'UD1, la séparation des autres plans d'eau se limitait au lac Barrel (le long de l'axe 1 pour la région *cyt-b*) et à la rivière Manigotagan (le long de l'axe 2 pour la région CO1). D'après les haplotypes du *cyt-b*, le lac Badesdawa se distingue des autres plans d'eau le long du deuxième axe (figure 6).

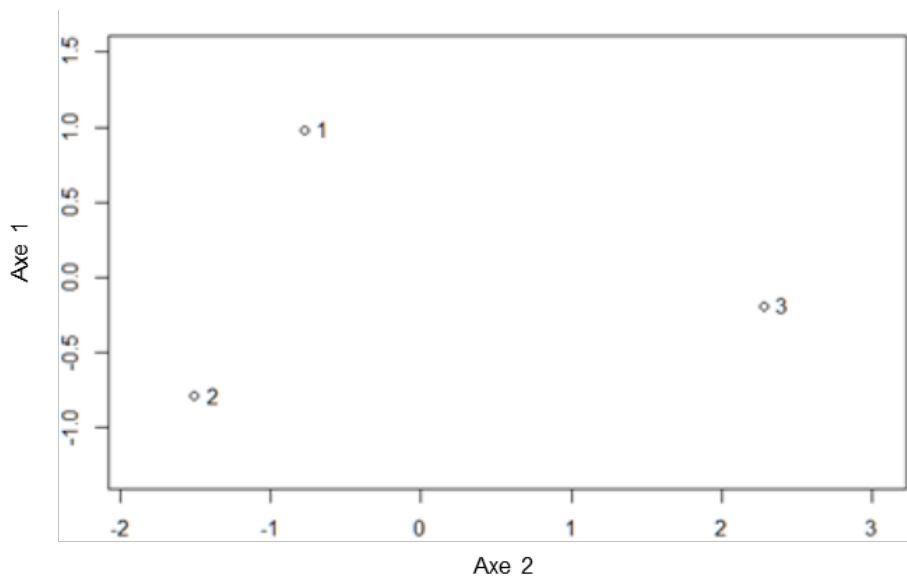


Figure 4. Diagramme de double projection des scores de l'analyse des principales composantes calculés pour chaque UD du dard de rivière à l'aide des haplotypes du *cyt-b* et des mesures de distance de Nei. L'axe 1 représente 85 % de la variation entre les UD et l'axe 2 représente 15 % de la variation.

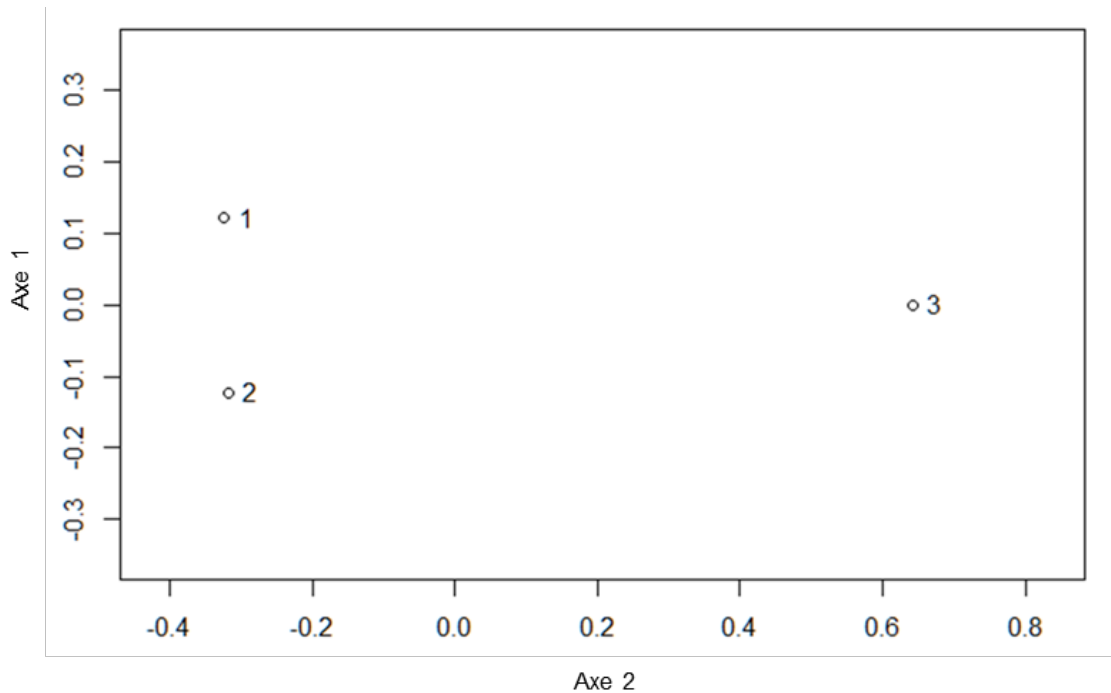


Figure 5. Diagramme de double projection des scores de l'analyse des principales composantes calculés pour chaque UD du dard de rivière à l'aide des haplotypes de la CO1 et des mesures de distance de Nei. L'axe 1 représente 93 % de la variation entre les UD et l'axe 2 représente 6 % de la variation.

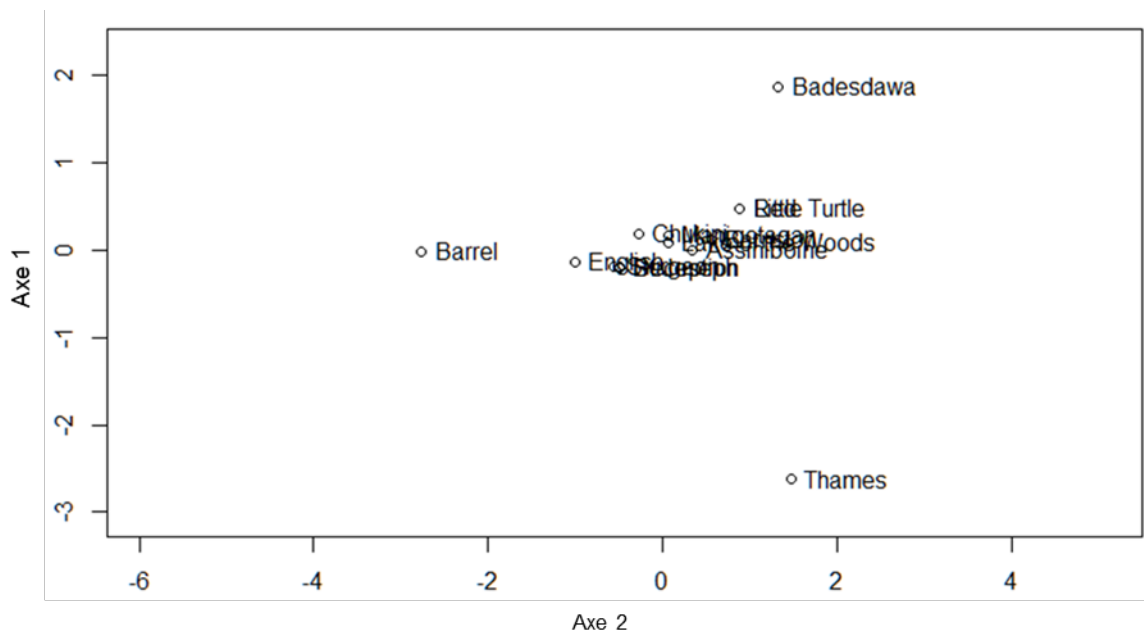


Figure 6. Diagramme de double projection des scores de l'analyse des principales composantes calculés pour chaque plan d'eau où est présent le dard de rivière à l'aide des haplotypes du cytb et des mesures de distance de Nei. L'axe 1 représente 45 % de la variation entre les UD et l'axe 2 représente 32 % de la variation.

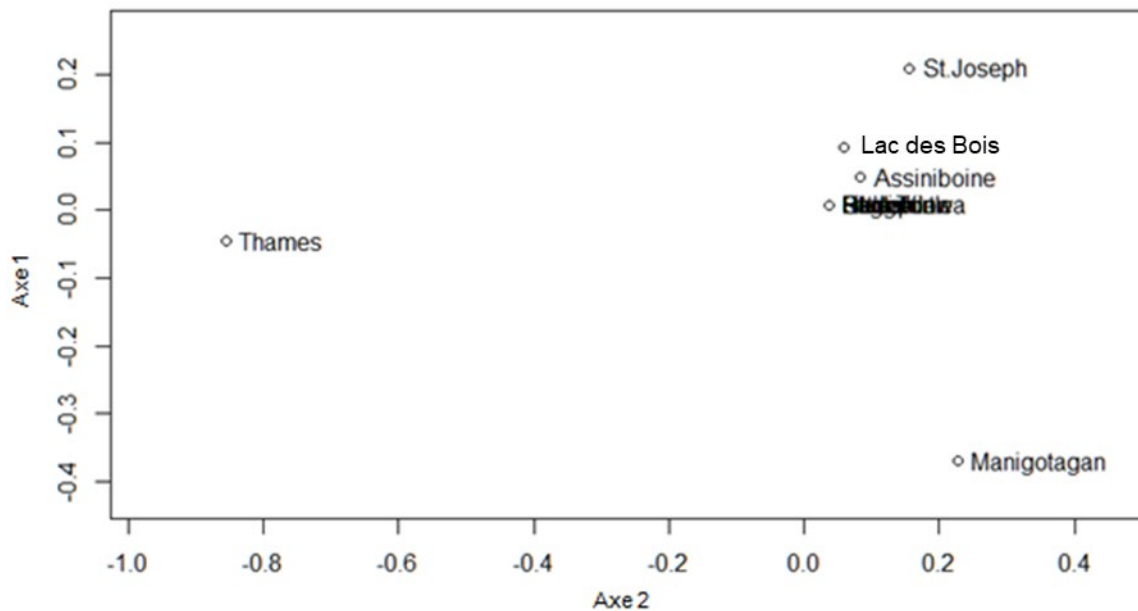


Figure 7. Diagramme de double projection des scores de l'analyse des principales composantes calculés pour chaque plan d'eau où est présent le dard de rivière à l'aide des haplotypes de la CO1 et des mesures de distance de Nei. L'axe 1 représente 79 % de la variation entre les UD et l'axe 2 représente 18 % de la variation.

DISCUSSION

Le principal objectif de notre étude était de caractériser la diversité des haplotypes de l'ADN mitochondrial du dard de rivière dans l'ensemble de son aire de répartition canadienne. Partout en Amérique du Nord, on a constaté que la structure génétique des populations de dards (Percidae) variait selon les échelles spatiales locales et régionales. Les caractéristiques topographiques telles que les obstacles (barrages et chutes d'eau), les profils d'écoulement (différents bassins versants), les refuges glaciaires et les voies de colonisation post-glaciaire influencent les variations génétiques entre les populations (Piller et al. 2008; Beneteau et al. 2009; Haponski et al. 2009; Ginson et al. 2015; Argentina et al. 2018; Euclide et Marsden 2018). Une telle variation peut être la preuve de la discrétion et de l'importance évolutive nécessaires pour l'identification de plusieurs UD (COSEPAC 2015). Pour deux espèces de dards (le fouille-roche gris et le dard de sable), des recherches génétiques récentes ont permis d'établir une structure multi-UD dans la ZBNF des Grands Lacs et du Haut Saint-Laurent (Reid et al. 2013 rapport non publié préparé pour le COSEPAC sous-comité des poissons d'eau douce; Ginson et al. 2015).

Notre étude fournit la preuve de la compartimentation de la diversité des haplotypes de l'ADN mitochondrial du dard de rivière au Canada, dans au moins deux UD. La différence entre les populations de dard de rivière était la plus marquée entre l'UD3 (ZBNF des Grands Lacs et du Haut Saint-Laurent) et les deux UD de l'ouest (ZBNF de la Saskatchewan-fleuve Nelson et du Sud de la baie d'Hudson-baie James). Cette interprétation se fonde sur la distribution des haplotypes uniques dans les UD, le réseau de généalogie cyt-b et les ordinations de l'analyse des principales composantes des données sur les haplotypes du cyt-b et de la CO1. Les données sur les haplotypes privés et l'analyse des principales composantes (cyt-b seulement) fournissent certaines preuves de différenciation entre l'UD1 et l'UD2. Ces deux interprétations

sont largement influencées par des échantillons provenant de deux plans d'eau : le lac Badesdawa (D2) et la rivière Thames (UD3).

Crossman et McAllister (1986) ont proposé une origine de refuge unique mississippienne pour le dard de rivière dans le bassin hydrographique de la baie d'Hudson (UD1 et UD2), du fait de la dispersion de l'espèce vers l'est par la liaison Barlow-Ojibway vers la baie d'Hudson et la rivière James en Ontario. De même, Mandrak et Crossman (1992) ont proposé une origine de refuge unique mississippienne pour les populations ontariennes du dard de rivière, avec deux voies de dispersion dans le Nord-ouest de l'Ontario et une voie de dispersion dans le Sud-ouest de l'Ontario. L'esturgeon jaune (*Acipenser fulvescens*) est l'un des rares poissons d'eau douce évalués par le COSEPAC dont l'aire de répartition englobe les trois ZBNF où le dard des rivières est présent. D'après les données d'ADN microsatellites, l'ascendance des populations d'esturgeon jaune de la ZBNF des Grands Lacs et du Haut Saint-Laurent a été interprétée comme étant d'origine mississippienne et d'origine missourienne pour les populations de la ZBNF Saskatchewan-fleuve Nelson et la ZBNF du Sud de la baie d'Hudson-baie James (COSEPAC 2017). Dans le cas d'un autre poisson percidé (doré jaune, *Sander vitreus*), on a proposé une ascendance missourienne pour les populations de l'Ontario au nord et à l'ouest du lac Supérieur, d'après des données génétiques (Stepien et al. 2009; Walter et al. 2012). Cependant, compte tenu de l'absence du dard de rivière dans l'Ouest de l'Amérique du Nord (contrairement à l'esturgeon jaune ou au doré jaune), l'ascendance missourienne est peu probable. Au lieu de cela, les populations de dard de rivière canadiennes représentent probablement plusieurs lignées associées à plusieurs refuges mississippiens, comme cela été constaté pour d'autres poissons d'eau douce présents dans l'aire de répartition du centre de l'Amérique du Nord, comme le maskinongé (Miller et al. 2017) et le méné long (Serrao et al. 2018).

Un objectif important de cette étude était de prélever et de séquencer d'autres échantillons des populations de dard de rivière de l'UD2 et de l'UD3. Toutefois, l'échantillonnage supplémentaire n'a fourni que six séquences supplémentaires de la rivière Thames (juillet 2016) et, par conséquent, il ne s'agit que d'une amélioration mineure par rapport à l'ensemble de données initial. Aucune autre interprétation ne peut être fournie pour le moment en ce qui concerne la discrétion des populations de l'UD1 et de l'UD2, ni la structure génétique des autres populations de l'UD2. Des échantillons de très petite taille ont été associés à cinq plans d'eau de l'UD1. Par conséquent, les résultats fondés sur la distribution des haplotypes uniques dans les UD et les données sur les ordinations d'haplotypes du diagramme de double projection des plans d'eau peuvent être faussés. De ce fait, le prélèvement ciblé et le séquençage d'échantillons supplémentaires provenant des trois UD restent des tâches importantes.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le personnel de Pêches et Océans Canada (Jason Barnucz, Bill Gardner, Robin Gesparly, Tom Pratt et Doug Watkinson) ainsi que le Musée royal de l'Ontario (Erling Holm) de nous avoir fourni des échantillons de tissu. Caleigh Smith (MRNF) a participé au séquençage et à la compilation des données. Le rapport a été amélioré grâce aux commentaires de Chris Wilson, Tom Pratt et Doug Watkinson.

RÉFÉRENCES CITÉES

Argentina, J.E., Angermeier, P.L., Hallerman, E.M., and Welsh, S.A. 2018. Spatial extent of analysis influences observed patterns of population genetic structure in a widespread darter species (Percidae). *Freshw. Biol.* 63: 1185–1198.

-
- Beneteau, C.L., Mandrak, N.E., and Heath, D.D. 2009. The effects of river barriers and range expansion on the population genetic structure and stability in Greenside Darter, *Etheostoma blennioides* (Percidae). *Conserv. Genet.* 10: 477–487.
- COSEPAC (Comité sur la situation des espèces en péril au Canada). 2015. [Lignes directrices du COSEPAC pour reconnaître les unités désignables](#). (accédé novembre 2016).
- COSEPAC. 2016. [Évaluation et Rapport de situation du COSEPAC sur le dard de rivière \(*Percina shumardi*\), populations des rivières Saskatchewan et Nelson, populations du sud de la baie d'Hudson et de la baie James et populations des Grands Lacs et du haut Saint-Laurent, au Canada](#). Comité sur la situation des espèces en péril au Canada. Ottawa, ON. xix + 56 p.
- COSEPAC. 2017. [Évaluation et Rapport de situation du COSEPAC sur l'esturgeon jaune \(*Acipenser fulvescens*\), populations de l'ouest et de la baie d'Hudson, populations de la rivière Saskatchewan et du fleuve Nelson, populations du sud de la baie d'Hudson et de la baie James et populations des Grands Lacs et du haut Saint-Laurent au Canada](#). Comité sur la situation des espèces en péril au Canada. Ottawa, ON. xxxi + 177 p.
- Crossman, E.J., and McAllister, D.E. 1986. Zoogeography of freshwater fishes of the Hudson Bay drainage, Ungava Bay and the Arctic Archipelago. *In* The Zoogeography of North American Fishes. Edited by C.H. Hocutt and E.O. Wiley. John Wiley & Sons, New York. pp. 53–104.
- DFO. 2015. [Proceedings of the regional peer review of the pre-COSEWIC assessment of River Darter; December 8, 2014](#). DFO Can. Sci. Advis. Sec. Proceed. Ser. 2015/008.
- Eliades N-G., and Eliades, D.G. 2009. [HAPLOTYPE ANALYSIS: Software for analysis of haplotype data](#). Forest Genetics and Forest Tree Breeding, Georg-August University Goettingen, Germany.
- Euclide, P., and Marsden, J.E. 2018. Role of drainage and barriers in the genetic structuring of a Tessellated Darter population. *Conserv. Genet.* 19:1379–1392.
- Ginson, R., Walter R.P., Mandrak, N.E., Beneteau, C.L., and Heath, D.D. 2015 Hierarchical analysis of genetic structure in the habitat-specialist Eastern Sand Darter (*Ammocrypta pellucida*). *Ecol. Evol.* 5: 695–708.
- Haponski, A.E., Bollin, T.L., Jedlicka, M.A., and Stepien, C.A. 2009. Landscape genetic patterns of the rainbow darter *Etheostoma caeruleum*: a catchment analysis of mitochondrial DNA sequences and nuclear microsatellites. *J. Fish Biol.* 75: 2244–2268.
- Holm, E., Mandrak, N.E., and Burrige, M.E. 2009. The ROM field guide to freshwater fishes of Ontario. Royal Ontario Museum, Toronto, ON. 462 p.
- Kyle, C.J., and Wilson, C.C. 2007. Mitochondrial DNA identification of game and harvested freshwater fish species. *Forensic Sci. Int.* 166(1): 68–76.
- Mandrak, N.E. 2018. Recovery Strategy for the River Darter (*Percina shumardi*) - Great Lakes – Upper St. Lawrence populations in Ontario. Ontario Recovery Strategy Series. Prepared for the Ontario Ministry of Natural Resources and Forestry, Peterborough, Ontario. v + 24 p.
- Mandrak, N.E., and Crossman, E.J. 1992. Postglacial dispersal of freshwater fishes into Ontario. *Can. J. Zool.* 70: 2247–2259.
- Miller, L.M., Farrell, J.M., Kapuscinski, K.L. Scribner, K., Sloss, B.L., Turnquist, K., and Wilson, C.C. 2017. A review of Muskellunge population genetics: implications for management and future research needs. *Am. Fish. Soc. Symp.* 85: 385–414.

-
- Paradis E., and Schliep, K. 2019. ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics*. 35: 526–528.
- Piller, K.R., Bart, H.L Jr., and Hurley, D.L. 2008. Phylogeography of the greenside darter complex (*Etheostoma blennioides*): A wide-ranging polytypic taxon. *Mol. Phylogenet. Evol.* 46: 974–985.
- Pratt, T.C., Gardner, W.M., Watkinson, D.A., and Bouvier, L.D. 2016. Ecology of the river darter in Canadian Waters: distribution, relative abundance, life history traits, diet and habitat characteristics. *Diversity* 8:1–16.
- Serrao, N., Reid, S.M., and Wilson, C.C. 2018. Conservation genetics of Redside Dace (*Clinostomus elongatus*): phylogeography and contemporary spatial structure. *Conserv. Genet.* 19: 409–424.
- Scott, W.B., and Crossman, E.J. 1973. Freshwater fishes of Canada. Fisheries Research Board of Canada Bulletin 184: xvii + 966 p.
- Song, C.B., Near, T.J., and Page, L.M. 1998. Phylogenetic relations among percid fishes as inferred from mitochondrial cytochrome b DNA sequence data. *Mol. Phylogenet. Evol.* 10: 343–353.
- Stepien, C.A., Murphy, D.J., Lohner, R.N, Sepulveda-Villet, O.J, and Haponski, A.E. 2009. Signatures of vicariance, postglacial dispersal and spawning philopatry: population genetics of walleye *Sander vitreus*. *Mol. Ecol.* 18: 3411–3428.
- Stewart, K.W., and D.A. Watkinson. 2004. The Freshwater Fishes of Manitoba. University of Manitoba Press. Winnipeg, Manitoba. 276 p.
- Walter, R.P, Pena, C.J., Morgan G.E., and Heath, D.D. 2012. Historical and anthropogenic factors affecting the population genetic structure of Ontario's inland lake populations of Walleye (*Sander vitreus*). *J. Herid.* 103: 831–841.
- Ward, R.D., Zemlak, T.S., Innes, B.H., Last, P.R., and Hebert, P.D. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B.* 360(1462): 1847–1857.
- Wozney, K.M., Haxton, T.J., Kjartanson, S., and Wilson, C.C. 2011. Genetic assessment of lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*) population structure in the Ottawa River. *Env. Biol. Fishes* 90: 183–195.