



Université du Québec
à Rimouski

**EFFETS COMBINÉS DU RÉCHAUFFEMENT, DE
L'ACIDIFICATION DES OCÉANS ET DE L'HYPOXIE SUR
LA VALEUR ÉNERGÉTIQUE ET LES QUALITÉS
NUTRITIONNELLE ET ORGANOLEPTIQUE DE LA
CREVETTE NORDIQUE (*PANDALUS BOREALIS*) DANS
L'ESTUAIRE DU SAINT-LAURENT**

Mémoire présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en gestion de la faune et ses habitats

en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences

Par

© **Mathilde Chemel**

Juillet 2019

Composition du jury :

Christian Nozais, Président du jury, Université du Québec à Rimouski

Piero Calosi, Directeur de recherche, Université du Québec à Rimouski

Denis Chabot, Co-directeur de recherche, Institut Maurice-Lamontagne (Ministère Pêche et Océans Canada)

Fanny Noisette, Co-directrice de recherche, Institut des Sciences de la mer, Université du Québec à Rimouski

Réjean Tremblay, Membre externe du jury, Institut des Sciences de la mer, Université du Québec à Rimouski

Dépôt initial le 23 mai 2019

Dépôt final le 22 juillet 2019

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

À mes grands-mères, Colette et Madeleine,
Qui ont toujours su chanter et célébrer la vie.

Toute mon admiration et mon amour.

À Laure,
Merveilleuse amie que tu as été.

REMERCIEMENTS

Bien que je figure comme seule auteure de ce mémoire, je tiens à souligner que sans le travail, les efforts, l'aide et le soutien de nombreuses personnes, je n'aurais pu y parvenir. Je tiens en premier lieu à remercier mes directeurs Piero Calosi, Denis Chabot et Fanny Noisette de m'avoir offert une si belle opportunité d'apprivoiser la science. Je vous remercie pour votre disponibilité, votre soutien et votre complémentarité tout au long de ce projet. J'ai eu énormément de plaisir à travailler avec vous et j'ai énormément appris à vos côtés. Fanny et Piero, je vous remercie très sincèrement et amicalement pour votre encadrement lors de cette maîtrise, je n'aurais pu mieux espérer. Je vous remercie de m'avoir poussée à l'épreuve, à me dépasser chaque jour un peu plus et de m'avoir encouragée autant et à chaque fois que cela a été nécessaire.

Je tiens à remercier Réjean Tremblay et Christian Nozais d'avoir accepté de constituer mon jury d'évaluation et pris le temps de lire ce mémoire.

Luc Beaudin, merci pour ton aide dans la conception et la construction de mon système expérimental, qui nous a donné tant de fil à retordre. Merci David Picard de m'avoir épaulée également dans le montage de ce système (et de m'avoir appris à changer une mèche de perceuse, je partais de loin !). Jérôme Gagnon, merci pour ta présence, ton humeur enjouée et ta disponibilité à répondre à mes nombreuses questions (même si tu disais toujours « mais non ! »). Enfin Tanya, merci infiniment pour tout. Pour ton aide chaque jour, ta disponibilité, ta bonne humeur quels que soient la saison et le moment de mon expérience, ton expertise en respirométrie, ton soutien les fins de semaines en plein hiver et enfin tes encouragements : sans toi, je n'aurais pu mener à bien ces expériences !

Merci à toutes les personnes de l'IML, de l'université et d'ailleurs, qui ont participé de près ou de loin aux petits et grands avancements de mon projet : Hélène Dionne pour tes précieux conseils et ton positivisme face aux aléas de la bombe calorimétrique; Liliane St-Amand pour les questions de tampon TRIS et de pH, Jean-Philippe Lapierre pour l'installation des logiciels de suivi du pH et de l'oxygène, Sylvie St-Pierre, François

Tremblay, Yves Gagnon, Gwendoline Tommi-Morin pour les analyses de DIC et d'alcalinité, Steeven Ouellet pour les analyses de calorimétrie et DIC, Jonathan Coudé pour ta patience infinie, Félix Christen pour ton aide dans la conception des protocoles et en laboratoire pour les extraction de lipides et protéines, Pierre Rioux pour ton expertise sur la méthode de Bradford (je sais à quel point tu es heureux que tes anciens étudiant(e)s fassent un peu de biochimie dans leur projet), Hugo Bourdages pour les références utiles sur les données de la pêche commerciale à la crevette, Sam Dupont pour les informations environnementales sur le Gullmarsfjord, Sara Fehsendfeld pour la réflexion et l'interprétation préliminaire des résultats de contenus en minéraux et Georges Kopp pour la conception et fabrication des respiromètres.

Merci au personnel de Merinov, et particulièrement Luc Leclerc et Ann Provençal pour votre aide pour les panels de dégustation et Marie-Élise Carbonneau et Diane Ouellet pour les analyses de vitamines.

Merci à l'équipe de la Garde Côtière Canadienne de nous avoir accueilli sur leur bateau, le Leim, pour les quelques jours de terrain en mai 2018 pour aller pêcher nos crevettes : quelle bouffée d'air frais dans une maîtrise passée en laboratoire et à la salle des bassins en lumière artificielle !

Merci à tous mes amis et collègues de l'IML : Cyrena, Romy, Raf, Caroline, Yihao, Sonia et tous les autres ! Les diners sur la plage devant la salle des bassins me manqueront !

Merci à Alain Caron, Astrid Tempestini, Fanny Noisette et Denis Chabot pour votre expertise en statistiques et votre aide notamment pour le codage dans R.

Merci à Marina Soubirou de m'avoir permis de participer à quelques entretiens de pêcheurs en Gaspésie, cela m'a amenée à mieux comprendre et découvrir le volet socio-économique de ce projet.

Merci à l'équipe Crevettes pour votre aide durant mes expériences, votre soutien, votre sérieux et votre dévotion à mes petits crustacés : Camille, Nathaniel et Christophe. Les

gars, vous avez été des super plombiers et coéquipiers ! Merci Valentine pour ta patience infinie avec la microbombe et ton aide pour les mesures de qualité nutritionnelle. Merci enfin Ella d'avoir été si présente et de m'avoir épaulée dans l'organisation de la 2^{ème} expérience, ce n'était pas mon point le plus fort, mais on se complétait bien, justement !)

Je tiens à remercier tous les membres de mon laboratoire pour votre soutien, vos conseils avisés et les belles soirées arrosées où on s'est consolé du rythme infernal que nous imposent parfois nos projets : Ella, Fanny, MH aka Captain Skohl, Francis et tes pichets de l'amour, Sarah aka Queen Libellule, Carly et tes pantoufles en fourrure rose (ça m'a marqué, oui), Catherine Miss Crevette, Nick, Maude, Nathaniel et Camille.

Merci à mes parents et à mes frères pour votre intérêt et votre soutien inconditionnel durant toutes ces années. Merci d'avoir cru en mes projets depuis le début et de m'avoir encouragée à suivre la voie que j'aimais, même si cela impliquait de partir si loin. Merci pour tes playlists, Tom. « Petit matin » m'aura permis de tenir le coup à distance et durant les heures d'écriture !

Merci à mes amis outre-Atlantique pour votre présence et votre intérêt à distance, même si les crevettes, ça vous passait mille pieds au-dessus de la tête : Armance mon Bibi, Cléclé, Arthur, Ophélie, Sarah, Léna, Nastasia.

Merci enfin à tous mes amis québécois, merci d'avoir été ma famille toutes ces années loin de la France. Je ne trouverai pas les mots pour vous dire à quel point ces années avec vous à Rimouski m'ont rendue heureuse ! Tout n'est que partie remise en Europe, les amis :) Val, Lou, Justine, PY, Jordan, Louise, Fefe, Jessé, Evelyne, Alex, Kasey, Chris, Lou, Chloé, Emilie, Christine, Sofia, Alana, Annie, vous êtes des personnes incroyables !

Ce projet n'aurait pu être réalisé sans le support et/ou le financement des organismes suivants : l'Université du Québec à Rimouski, le Ministère Pêche et Océans Canada, Mitacs, Ouranos, Québec Océan, le Centre des Sciences de la biodiversité du Québec et Réseau Québec Maritime.

AVANT-PROPOS

Ce mémoire est présenté sous forme de deux chapitres. Le premier chapitre, écrit en anglais sous la forme d'un article scientifique, est intitulé « *Energetics of the Northern shrimp *Pandalus borealis* under the combined exposure to ocean warming, ocean acidification and hypoxia* » et traite des effets des changements globaux isolés et combinés sur les contenus énergétiques, en lipides et en protéines de la crevette nordique. Le deuxième chapitre, écrit en anglais sous la forme d'un article scientifique, est intitulé « *Will global changes have a bitter taste ? Effects of ocean warming, acidification and hypoxia on the nutritional and organoleptic quality of the Northern shrimp *Pandalus borealis** » et traite des effets des changements globaux isolés et combinés sur les qualités nutritionnelle et organoleptique de la crevette nordique. Ces deux articles seront prochainement soumis aux journaux *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* et *Journal of Shellfish Research*, respectivement. Les auteurs contributeurs (après l'auteure principale) de ces deux articles sont notés dans l'ordre alphabétique.

Le travail de recherche à l'origine de ce mémoire a également généré d'autres produits et travaux, qui ne sont pas présents dans ce mémoire. J'ai ainsi présenté deux fois des affiches lors des réunions annuelles de Québec Océan, en novembre 2017 et 2018. Les réunions multidisciplinaires entre les différents groupes de recherche du projet (biologie et développement des territoires) se sont tenues annuellement afin de partager les résultats et les avancées du projet à OURANOS (février et mai 2018 et avril 2019) et à Merinov et au Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ) (mars 2019).

Enfin, les données récoltées en expérience et en laboratoire seront publiées et disponibles sur la plateforme publique PANGEA.

RÉSUMÉ

La valeur calorique et la composition biochimique des tissus (protéines, lipides etc.) constituent des paramètres qui définissent la condition énergétique d'un organisme. Ils renseignent sur l'apport énergétique de la crevette pour son prédateur et définissent sa qualité nutritionnelle. Ces paramètres énergétiques peuvent être impactés par les conditions environnementales (saison, disponibilité de nourriture etc.). Dans un contexte de changements globaux, les fluctuations environnementales naturelles vont s'accroître, ce qui pourrait exacerber les variations de la valeur calorique et/ou de la composition biochimique des organismes, pouvant ultimement influencer les qualités nutritionnelle et organoleptique des produits de la mer. À ce jour, peu d'études se penchent sur les effets combinés des changements environnementaux sur la physiologie des organismes, alors même qu'ils sont soumis simultanément à de multiples stressseurs, susceptibles d'interagir.

La crevette nordique *Pandalus borealis* est une espèce sténotherme adaptée au froid, et donc considérée comme particulièrement sensible au réchauffement. Dans l'estuaire du Saint-Laurent, elle est actuellement soumise au réchauffement, à l'hypoxie et à l'acidification simultanément.

L'objectif principal est de déterminer les effets simples et combinés du réchauffement, de l'acidification et de l'hypoxie sur la valeur énergétique (c.-à-d. densité calorique et contenus en protéines et lipides) et les qualités nutritionnelle et organoleptique de *P. borealis*. Pour ce faire, les crevettes ont été exposées 30 jours à la combinaison de trois températures, deux pH et deux niveaux d'oxygène dissous. Les résultats ont montré que l'exposition au réchauffement, à un bas pH et à l'hypoxie n'affectent pas de manière significative la valeur calorique, les teneurs totales en protéines et en lipides et les attributs organoleptiques des crevettes, mais diminuent considérablement leur survie. De manière générale, les contenus en minéraux étaient plus importants à la température la plus élevée (10 °C). Globalement, nos résultats montrent que les crevettes survivantes sont capables de maintenir leur valeur nutritionnelle et la qualité organoleptique dans le contexte des changements globaux. Toutefois, l'augmentation de la mortalité observée dans les scénarios environnementaux futurs pourrait avoir des retombées sur la structure et fonctions des écosystèmes marins benthiques en diminuant la biomasse de crevettes disponible pour les prédateurs. Enfin, les communautés côtières pourraient voir leur activité liée à l'industrie de la pêche à la crevette réduite si l'abondance des stocks continue de diminuer en réponse aux conditions environnementales futures.

Mots clés : Composition biochimique, réponse énergétique, valeur nutritive, qualité organoleptique, changements globaux, crustacé, pêcheries

ABSTRACT

Caloric value and biochemical composition of tissues (proteins, lipids, etc.) are important parameters defining organism's physiological condition. They provide information on an individual's energy resource and define its nutritional value. These energy parameters can be impacted by environmental conditions (season, food availability, etc.). Within the context of the ongoing global change, environmental fluctuations could increase to levels beyond the current natural fluctuations and may further exacerbate caloric value and/or biochemical changes experienced by organisms. These changes can ultimately influence the nutritional and organoleptic qualities of seafood products. To date, very few studies have investigated the impact of multiple global change drivers on the physiology of marine organisms, even though they are simultaneously subjected to multiple stressors that may interact.

The northern shrimp *Pandalus borealis* is a cold adapted stenotherm and therefore considered particularly sensitive to warming. Studying the physiological responses of *P. borealis* to simultaneous environmental fluctuations is particularly relevant for the shrimp stock of the Saint-Lawrence estuary as this region is already facing a simultaneous increase in temperature, hypoxia and a decrease in pH.

The main objective of my thesis is that to determine the impact of elevated temperature, low pH/high $p\text{CO}_2$ and low oxygen conditions in isolation and combined on the energy condition (caloric value and protein and lipid content) and the nutritional and organoleptic qualities of *P. borealis*. To do this, shrimp were exposed 30 days to the combination of three levels of temperature, two levels of pH and two levels of oxygen. The results showed that exposure to elevated temperature, low pH, and low oxygen levels did not significantly affect caloric value, total protein and lipid, and organoleptic attributes, but significantly decreased survival. In general, the mineral contents were greater at the highest temperature tested (10 °C). Overall, our results show that survival shrimp are able to maintain their nutritional value and organoleptic quality in the context of global changes. However, considering the high mortality rate observed in future environmental scenarios, the reduction in population's biomass could have important repercussions for the structure and functioning of benthic marine ecosystems and socio-economic implications for fisheries and coastal communities, relying on shrimp industry.

Key words : Biochemical composition, energetic responses, nutritive value, organoleptic quality, global changes, crustaceans, fisheries

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	x
AVANT-PROPOS	xiv
RÉSUMÉ.....	xvi
ABSTRACT	xvii
TABLE DES MATIÈRES	xviii
LISTE DES TABLEAUX.....	xxi
LISTE DES FIGURES.....	xxii
LEXIQUE.....	xxv
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
TENDANCES GÉNÉRALES DES RÉPONSES PHYSIOLOGIQUES DES ECTOTHERMES AU RÉCHAUFFEMENT, À LA DIMINUTION DE PH ET À L'HYPOXIE	5
RÉPONSES ÉNERGÉTIQUES DES INVERTÉBRÉS MARINS FACE AUX CHANGEMENTS GLOBAUX.....	9
LE CAS DE LA CREVETTE NORDIQUE.....	11
OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES DE L'ÉTUDE.....	14
CHAPITRE 1 RÉPONSE DE LA VALEUR ÉNERGÉTIQUE DE LA CREVETTE NORDIQUE <i>PANDALUS BOREALIS</i> À L'EXPOSITION COMBINÉE DU RÉCHAUFFEMENT, DE L'ACIDIFICATION DES OCÉANS ET DE L'HYPOXIE	15
1.1 INTRODUCTION.....	16
1.2 METHODS	19
1.2.1 Specimens collection, transport and maintenance.....	19
1.2.2 Experimental design and set up.....	20

1.2.3	Seawater monitoring environmental and carbonate chemistry calculations	22
1.2.4	Experimental protocol, survival determination and tissue preservation	23
1.2.5	Determination of energy content	25
1.2.6	Total lipids quantification	26
1.2.7	Total proteins quantification	27
1.2.8	Statistical analyses	27
1.3	RESULTS	28
1.3.1	Survival	28
1.3.2	Energetics traits: caloric values, total lipid and protein contents	29
1.4	DISCUSSION	31
1.4.1	Survival	31
1.4.2	Caloric value	32
1.4.3	Lipid and protein content	33
1.4.4	Conclusion	35
CHAPITRE 2 LES CHANGEMENTS GLOBAUX ONT-ILS UN GOÛT AMER		
? EFFETS DU RÉCHAUFFEMENT, DE L'ACIDIFICATION ET DE		
L'HYPOXIE SUR LES QUALITÉS NUTRITIONNELLE ET		
ORGANOLEPTIQUE DE LA CREVETTE NORDIQUE <i>PANDALUS</i>		
<i>BOREALIS</i>.....		
		38
2.1	INTRODUCTION	39
2.2	METHODS.....	42
2.2.1	Specimen collection, transport and maintenance	42
2.2.2	Experimental design and set up	42
2.2.3	Monitoring of seawater chemical and physical parameters and characterization of the carbonate chemistry	44
2.2.4	Survival determination and tissue sample preparation	45
2.2.2	Tissue mineral and vitamin B ₃ composition	45
2.2.3	Organoleptic quality evaluation	48
2.2.4	Statistical analyses	49

2.3 RESULTS	50
2.3.1 Survival	50
2.3.2 Mineral and vitamin B ₃ contents	51
2.3.3 Organoleptic quality	52
2.4 DISCUSSION.....	56
2.4.1 Impacts of combined global change drivers on survival.....	56
2.4.2 Impacts of combined global change drivers on mineral content.....	57
2.4.3 Impacts of combined global change drivers on organoleptic quality of shrimps	58
2.4.4 Conclusion.....	60
CONCLUSION GÉNÉRALE	64
RÉSISTANCE PHYSIOLOGIQUE DES CREVETTES SURVIVANTES	64
PERTINENCE D'INTÉGRER DES DONNÉES PHYSIOLOGIQUES DANS LES MODÈLES D'ESTIMATION D'IMPACTS ÉCOLOGIQUES ET SOCIO-ÉCONOMIQUES DES CHANGEMENTS GLOBAUX.....	66
LIMITES ET PORTÉES DE L'ÉTUDE.....	67
RÉFÉRENCES.....	70
ANNEXES	88

LISTE DES TABLEAUX

Table 1. Physico-chemical parameters of the different seawater treatment (mean \pm SD): temperature ($^{\circ}\text{C}$), pH (Total scale), salinity, total alkalinity (TA — $\mu\text{mol kg}^{-1}$), total carbon dioxide (DIC — $\mu\text{mol kg}^{-1}$), carbon dioxide partial pressure ($p\text{CO}_2$ — μatm), bicarbonate concentration (HCO_3^- — $\mu\text{mol kg}^{-1}$), carbonate concentration (CO_3^{2-} — $\mu\text{mol kg}^{-1}$) and Ω_{calcite} and $\Omega_{\text{aragonite}}$	24
Table 2. Mean (\pm SD) of survival rates (%) and mean (\pm SE) of energy (kJ g^{-1} dry mass), protein (mg g^{-1}) and lipid (g) content of the Northern shrimp <i>Pandalus borealis</i> exposed to elevated temperature, low pH and hypoxia: in more detail, treatment symbols correspond to 2C: pH 7.75, 2 $^{\circ}\text{C}$; 2A: pH 7.4, 2 $^{\circ}\text{C}$; 2CH: pH 7.75, 2 $^{\circ}\text{C}$, O_2 sat. 30 %; 6C: pH 7.75, 6 $^{\circ}\text{C}$; 6A: pH 7.4, 6 $^{\circ}\text{C}$; 10C: pH 7.75, 10 $^{\circ}\text{C}$; 10A: pH 7.4, 10 $^{\circ}\text{C}$; 10AH: pH 7.4, 10 $^{\circ}\text{C}$, O_2 sat. 30 %. Different superscript letters above mean survival values represent significant differences between treatments.	36
Table 3. Summary of the statistical results for the investigation of the effect of exposure to elevated temperature and low pH (design #A, see section 1.2.2) and elevated temperature and low pH combined (horizon), and hypoxia (Oxygen) (design #B, see section 1.2.2) on the survival, energy content of whole and muscle shrimp, total lipids and protein in <i>P. borealis</i>	37
Table 4. Mean physico-chemical parameters of the different seawater treatment (mean \pm SD): temperature ($^{\circ}\text{C}$), pH (Total scale), salinity, total alkalinity (TA — $\mu\text{mol kg}^{-1}$), total carbon dioxide (DIC — $\mu\text{mol kg}^{-1}$), carbon dioxide partial pressure ($p\text{CO}_2$ — μatm), bicarbonate concentration (HCO_3^- — $\mu\text{mol kg}^{-1}$), carbonate concentration (CO_3^{2-} — $\mu\text{mol kg}^{-1}$) and Ω_{calcite} and $\Omega_{\text{aragonite}}$	46
Table 5. Table of occurrences of recoded most occurrent words in panelists comments	56
Table 6. Summary of statistical results for the investigation of the effect of elevated temperature and low pH (design #A, see section 2.2.2) and elevated temperature and low pH with hypoxia (design #B, see section 2.2.2) on survival and mineral content in <i>P. borealis</i>	63

LISTE DES FIGURES

- Figure 1.** Figure conceptuelle montrant les effets interactifs possibles de deux facteurs de stress sur les performances biologiques et physiologiques d'un organisme. Ces facteurs de stress peuvent influencer les performances d'un individu de manière indépendante (additive) ou interagir pour réduire (antagoniste) ou améliorer (synergique) les performances (Fig adaptée de Todgham & Stillman, 2013 selon le concept de Côté *et al.*, 2016)..... 2
- Figure 2.** Représentation schématique simplifiée de la chimie des carbonates et du phénomène d'acidification des océans au sein de l'océan libre (Fig modifiée de Fanny Noisette). 3
- Figure 3.** Schéma conceptuel des effets cumulés de plusieurs facteurs de stress sur les performances métaboliques en fonction de la température. 8
- Figure 4.** Plage de températures (traits fins) et températures associées aux plus grandes abondances (traits épais) de plusieurs populations de crevette nordique dans le Nord-Ouest de l'Atlantique. 13
- Figure 5.** Schematic representation of the experimental design investigating the effect of elevated temperature, low pH and hypoxia..... 21
- Figure 6.** Schematic representation of the experimental set-up used at the DFO Maurice Lamontagne Institute (Mont-Joli, Qc, Canda). 21
- Figure 7.** Schematic representation of tissue sample conserved for biochemical analyses. 25
- Figure 8.** The effect of temperature, pH and DO on survival rate (%) of female Northern shrimp *Pandalus borealis* at the end of 30 d exposure. Points represent mean survival of the two replicate tanks of each treatment. Treatment symbols correspond to 2C : pH 7.75, 2 °C, O₂ sat. 100 % (dark green); 2A : pH 7.4, 2 °C, O₂ sat. 100 % (light green); 2CH : pH 7.75, 2 °C, O₂ sat. 30 % (light striped green); 6C : pH 7.75, 6 °C (dark orange); 6A : pH 7.4, 6 °C (light orange); 10C : pH 7.75, 10 °C, O₂ sat. 100 % (dark red); 10A : pH 7.4, 10 °C, O₂ sat. 100 % (light red); 10AH : pH 7.4, 10 °C, O₂ sat. 30 % (light striped red). Different letters represent significant differences between groups. 28

- Figure 9.** The effect of temperature and pH (design #A) and temperature, pH and DO (design #B) on mean whole shrimp energy content (kJ g^{-1} dry mass) of female shrimp (*P. borealis*) from the Saint-Lawrence Estuary. Full line represents the median and dotted line represents the mean of the group for each treatment; points represents extreme values of each group. Data for energy content of 10C and 10AH are not presented in design #B because survival was too low in 10AH (extreme temperature, low pH and hypoxia) and there was no available individual to analyze whole shrimp energy content.29
- Figure 10.** The effect of temperature and pH (design #A) and temperature, pH and DO (design #B) on mean muscle energy content (kJ g^{-1} dry mass) of female shrimp *P. borealis* from the Saint-Lawrence Estuary. Full line represents the median, dotted line represents the mean of the group for each treatment; points represents extreme values of each group.30
- Figure 11.** The effect of elevated temperature and low pH (design #A) and elevated temperature, low pH and hypoxia (design #B) on mean muscle total lipids content (g) of female shrimp *P. borealis* from the Saint-Lawrence Estuary. Full line represents the median and dotted line represents the mean of the group for each treatment; points represents extreme values of each group.30
- Figure 12.** The effect of elevated temperature and low pH (design #A) and elevated temperature, low pH and hypoxia (design #B) on mean muscle total proteins content of female shrimp muscle *P. borealis* from the Saint-Lawrence Estuary. Full line represents the median and dotted line represents the mean of the group for each treatment; points represents extreme values of each group.31
- Figure 13.** Schematic representation of experimental design exploring the effect of elevated temperature, low pH and hypoxia. Treatment symbols correspond to 2C : pH 7.75, 2 °C (dark green); 2A : pH 7.4, 2 °C (light green); 2CH : pH 7.75, 2 °C, O₂ sat. 30 % (light striped green); 6C : pH 7.75, 6 °C (dark orange); 6A : pH 7.4, 6 °C (light orange); 10C : pH 7.75, 10 °C (dark red); 10A : pH 7.4, 10 °C (light red); 10AH : pH 7.4, 10 °C, O₂ sat. 30 % (light striped red).43
- Figure 14.** The effect of elevated temperature, low pH and hypoxia on mean survival rate (%) of females of the Northern shrimp *Pandalus borealis* at the end of 30 d exposure. Points represent mean survival of the two replicate tanks of each treatment. Treatment symbols correspond to 2C : pH 7.75, 2 °C (dark green); 2A : pH 7.4, 2 °C (light green); 2CH : pH 7.75, 2 °C, O₂ sat. 30 % (light striped green); 6C : pH 7.75, 6

°C (dark orange); 6A : pH 7.4, 6 °C (light orange); 10C : pH 7.75, 10 °C (dark red); 10A : pH 7.4, 10 °C (light red); 10AH : pH 7.4, 10 °C, O₂ sat. 30 % (light striped red). Different letters at the top of the graph represent significant differences between treatments. 51

Figure 15. The effect of elevated temperature and low pH on log mean muscle [K⁺], [Fe²⁺], [Mg²⁺], [Sr²⁺], [Zn²⁺], [Cu²⁺], (mmol kg⁻¹ ± standard error) of female *P. borealis* at the end of 30 d exposure. Full line represents the median, dotted line represents the mean of the group for each treatment, superscripts represent significant differences between groups, points represents extreme values of each group..... 53

Figure 16. The effect of hypoxia on the combined exposure to elevated temperature and low pH on log mean muscle [K⁺], [Fe²⁺], [Mg²⁺] and (mmol kg⁻¹ ± standard error) of female *P. borealis* at the end of 30 d exposure during summer 2018. Full line represents the median, dotted line represents the mean of the group for each treatment, superscripts represent significant differences between groups, points represents extreme values of each group..... 54

Figure 17. Distribution of the different group of samples on the basis of the first two principal components according to their treatment. 55

Figure 18. Figure récapitulative des résultats de l'étude, présentant les réponses en termes de valeur énergétique et qualités nutritionnelle et organoleptique de la crevette nordique, exposée à plusieurs scénarios de changements globaux. 66

LEXIQUE

Qualité nutritionnelle : la qualité nutritionnelle dépend de la composition proximale des tissus, c'est-à-dire de la teneur en protéines, lipides, minéraux, vitamines etc., qui permettent de définir la valeur nutritive d'un individu pour le consommateur ou un prédateur naturel.

Qualité organoleptique : se réfère aux attributs sensoriels d'un aliment, en termes de goût, texture, odeur, aspect visuel, ceux-ci déterminant l'appréciation de l'aliment et donc sa qualité pour le consommateur.

Stresseur : variable environnementale ou non, ou changement d'une variable environnementale pouvant représenter une menace à l'homéostasie d'un individu, qui force l'organisme à faire des ajustements physiologiques.

Densité calorique : représente la quantité d'énergie (en kJ g^{-1} poids sec) d'un organisme. Elle dépend de la composition biochimique des tissus, qui déterminent les ressources énergétiques d'un individu, disponibles pour la croissance, la reproduction etc.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les impacts de l'humain sur son environnement s'exercent à plusieurs échelles et s'illustrent de multiples façons, notamment à travers la transformation et la perte d'habitat, la surexploitation des espèces, la pollution et les changements globaux (Sanderson *et al.*, 2002 ; Halpern *et al.*, 2007 ; Halpern *et al.*, 2008). Parmi ces facteurs, les variations physico-chimiques induites par l'anthropisation des systèmes peuvent représenter des facteurs de stress pour les organismes. Ici la notion de stresser fait référence à tout facteur environnemental ou non, pouvant constituer une menace à l'homéostasie d'un individu (Moberg, 2000). Un facteur environnemental dont la variation dépasse la fluctuation naturelle peut constituer un stresser, en augmentant par exemple la demande énergétique ou contraignant l'activité métabolique de l'individu (e.g. Claireaux & Lagardère, 1999). Les effets isolés de ces changements (ex. augmentation de la température) sur les espèces, les écosystèmes et les liens qui régissent ces entités sont largement documentés (e.g. Petchey *et al.*, 1999 ; Pörtner et Farrell, 2008 ; Yang et Rudolf, 2010). Pourtant, encore peu d'études se penchent sur les effets combinés de plusieurs de ces changements, alors même que les environnements et les organismes sont soumis simultanément à de multiples stressers, susceptibles d'interagir les uns avec les autres. La combinaison de ces stressers peut avoir des effets potentiellement additifs, antagonistes ou synergiques (Figure 1) sur les réponses biologiques et physiologiques des organismes. Dès lors, il devient essentiel d'intégrer cette notion de multistresseur dans l'étude des réponses biologiques et physiologiques des organismes afin de mieux comprendre les impacts combinés des changements globaux et prévoir les réponses populationnelles, des communautés et des écosystèmes (Crain *et al.*, 2008 ; Todgham & Stillman, 2013).

Dans un contexte de changements globaux, les organismes marins font face au changement simultané de plusieurs paramètres environnementaux induits par les changements sans précédent qui se sont opérés depuis la révolution industrielle. Depuis les années 1750, l'atmosphère a changé de composition avec une augmentation marquée de la concentration des gaz à effet de serre (GES), notamment le dioxyde de carbone (CO₂), qui

participe au phénomène du même nom (IPCC, 2014) à l'origine du réchauffement climatique (Mitchell, 1989).

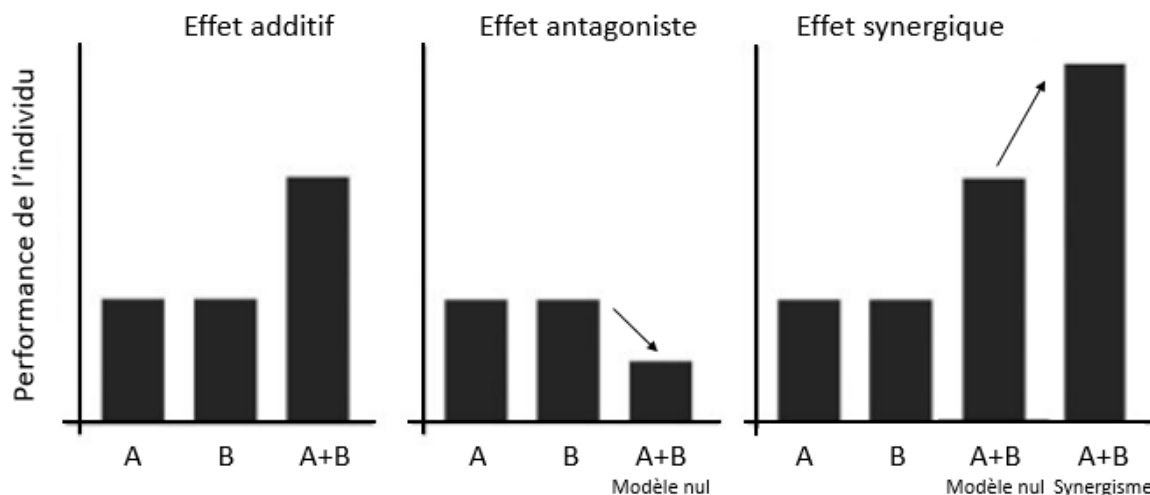


Figure 1. Figure conceptuelle montrant les effets interactifs possibles de deux facteurs de stress sur les performances biologiques et physiologiques d'un organisme. Ces facteurs de stress peuvent influencer les performances d'un individu de manière indépendante (additive) ou interagir pour réduire (antagoniste) ou améliorer (synergique) les performances (Fig adaptée de Todgham & Stillman, 2013 selon le concept de Côté *et al.*, 2016).

Au cours de la période 1880-2012, la moyenne mondiale de température de surface terrestre et océanique a augmenté de 0,85 [0,65 à 1,06] °C (IPCC, 2014) et plus récemment, la Terre s'est réchauffée d'environ 0,2 °C par décennie depuis 30 ans (Hansen *et al.*, 2006), avec un réchauffement plus marqué pour l'hémisphère nord (Trenberth *et al.*, 2007). Le réchauffement climatique a également entraîné une augmentation de la température des eaux de surface de 0,7 °C au cours des 100 dernières années (Trenberth *et al.*, 2007), tandis que les couches plus profondes ont très peu changé, de sorte que le réchauffement des océans résultant sur toute la colonne d'eau atteint 0,04 °C entre 1955 et 1998 (Gruber, 2011). L'augmentation du CO₂ atmosphérique a entraîné une augmentation sans précédent de CO₂ dissous dans les océans, ayant une influence directe sur la chimie des carbonates dans les océans. Concrètement, l'augmentation de CO₂ dissous intervient sur les équilibres thermodynamiques du système des carbonates, favorisant la formation d'ions bicarbonates

HCO_3^- et hydrogène H^+ , causant une diminution du pH et de la concentration des ions carbonate CO_3^{2-} (Fig 2) (Zeebe & Wolf-Gladrow, 2001). Ce processus appelé acidification des océans (AO) pourrait engendrer une diminution globale de 0.35 unités pH sur la totalité des eaux de surface du globe selon le scénario le plus pessimiste du Groupe Intergouvernemental pour le Climat (GIEC, voir plus bas) (IPCC, 2014 ; Riebesell *et al.*, 2011).

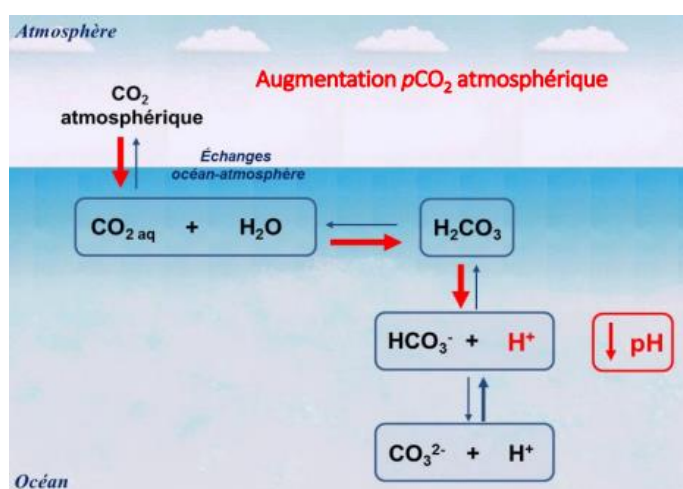


Figure 2. Représentation schématique simplifiée de la chimie des carbonates et du phénomène d'acidification des océans au sein de l'océan libre (Fig modifiée de Fanny Noisette).

Par ailleurs, en parallèle des deux grandes menaces du réchauffement et de l'AO, la désoxygénation des eaux profondes est un phénomène de plus en plus inquiétant pour de nombreux écosystèmes marins. L'oxygène dissous (OD) dans la couche de surface provient de la diffusion de l'oxygène (O_2) atmosphérique et de la production primaire. Les phénomènes de turbulence permettent à des couches plus profondes d'être enrichies en O_2 par mélange avec la couche de surface. Cependant les phénomènes de stratification des masses d'eau induisent une diminution de l' O_2 avec la profondeur, avec dans certains cas, la création de conditions hypoxiques. La définition de l'hypoxie diffère selon les auteurs et surtout selon l'utilisation que l'on veut en faire. L'établissement d'un seuil précis au-dessous duquel les conditions sont considérées hypoxiques (2 mL L^{-1} , Diaz & Rosenberg 2008) est particulièrement utile lorsque l'on souhaite déterminer la superficie hypoxique (km^2) d'un habitat. Cependant la valeur de ce seuil est très faible et une telle définition peut être

considérée comme très conservatrice (Hrycik *et al.*, 2017) puisque les effets létaux ou non sur la biologie et la physiologie des espèces marines peuvent se faire sentir bien avant ce seuil de 2 mL L^{-1} (Chabot, 2004 ; Vaque-Sunyer et Duarte, 2008). Dans cette étude, l'hypoxie sera définie comme tout niveau d'oxygène dissous assez faible pour engendrer des effets négatifs sur le comportement et/ou la physiologie d'un organisme (Pollock *et al.*, 2007). Le niveau d'oxygène dissous choisi représente ainsi un niveau qui illustre les conditions naturelles du lieu d'étude, ce niveau d'oxygène dissous constituant un seuil d'hypoxie chronique non léthal fréquemment rencontré en nature par l'espèce modèle (voir ici-bas, Dupont-Prinet *et al.*, 2013).

L'hypoxie est aujourd'hui un phénomène fortement liée aux changements climatiques (Gruber, 2011). En effet, le réchauffement des eaux diminue la solubilité de l' O_2 et ainsi la quantité d' O_2 disponible pour les organismes aquatiques, tandis que la demande en O_2 des organismes augmente (Verbeck *et al.*, 2018). Le réchauffement différentiel entre les couches de surface et de fond est en partie responsable d'une stratification plus marquée de la colonne d'eau qui isole le fond peu oxygéné de la surface riche en O_2 . De plus, les processus de respiration dans la couche profonde contribuent à la diminution de la concentration en oxygène dans ces milieux. La désoxygénation des eaux côtières de faible profondeur, liée au processus d'eutrophisation, est également un phénomène de plus en plus répandu en zone anthropisée, contribuant à l'augmentation générale des eaux hypoxiques dans les océans (Diaz 2001).

Le Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC) a établi différents scénarios de forçage radiatif, appelés *Representative Concentration Pathways* (RCP), qui traduisent l'évolution du climat jusqu'en 2300. Selon le scénario le plus pessimiste mais le plus réaliste (RCP 8.5), la température de l'atmosphère devrait augmenter de près de $4 \text{ }^\circ\text{C}$ et le pH de l'eau résultant d'ici la fin du siècle devrait diminuer de 0.35 à 0.4 unités. Ce scénario prévoit également une intensification du phénomène d'hypoxie sur la planète (IPCC, 2014).

Tendances générales des réponses physiologiques des ectothermes au réchauffement, à la diminution de pH et à l'hypoxie

Conceptuellement, la condition énergétique d'un individu décrit l'état des réserves énergétiques d'un organisme et est un déterminant de la performance d'un individu (taux d'activité, succès reproducteur, capacité de réponse...) (Jakob *et al.*, 1996). Elle est dépendante du bon fonctionnement de nombreuses voies physiologiques et des réserves énergétiques d'un organisme, susceptibles d'être fortement impactées par les variations de température, d'oxygène et de pH dans le cadre des changements globaux. L'influence de ces facteurs isolés sur le métabolisme général des ectothermes est bien documentée dans la littérature (e.g. Grieshaber *et al.*, 1993 ; Pörtner et Farrell, 2008 ; Whiteley, 2011) et j'en présente ici les points principaux qui sont évidemment des réponses généralement observées à travers différents taxons et n'excluent pas les spécificités de certaines espèces.

Les variations environnementales de température sont susceptibles d'affecter davantage la physiologie des ectothermes marins puisque ces derniers ne maintiennent pas leur température interne stable quelles que soient les variations environnementales. En effet, la température est un facteur déterminant qui contrôle le métabolisme, influençant par exemple la cinétique des réactions cellulaires, la synthèse des protéines et des lipides, le statut acide-base et le taux métabolique (Pörtner, 2002 ; Somero, 2010). Ainsi, chaque organisme possède une fenêtre de préférence thermique, dans laquelle sa performance métabolique est maximisée (Pörtner, 2001). L'étendue de cette fenêtre thermique est propre à chaque individu et dépend notamment de la plasticité phénotypique de l'organisme (Ghalambor *et al.*, 2007 ; Angilletta, 2009 ; Magozzi & Calosi, 2015). Le métabolisme augmente exponentiellement avec l'accroissement de la température jusqu'à atteindre une valeur maximale, représentant la capacité maximale d'un individu à approvisionner ses tissus en O₂ (Fig 2, mais d'autres réponses sont possibles, Chabot et Claireaux, 2018) et à l'utiliser au niveau de la mitochondrie pour produire de l'énergie *via* la voie aérobie. Au-delà de cette température, la consommation en O₂ chute drastiquement en même temps que les performances de l'organisme qui n'est plus capable de fournir suffisamment d'énergie pour maintenir son métabolisme. Au-delà de la température optimale, au niveau cellulaire, la synthèse des

protéines et des lipides est très affectée puisque leur structure et leur production est efficace pour une gamme de température particulière (e.g. Carter & Houlihan, 2001). Ainsi, il a déjà été montré que le contenu en lipides de plusieurs organismes marins diminue lorsqu'ils sont soumis à des températures élevées (Anacleto *et al.*, 2014 ; Ab Lah, 2017).

En parallèle, la diminution de l'O₂ au sein des océans limite immédiatement la performance physiologique des ectothermes qui sont des organismes hétérotrophes aérobies, puisqu'elle diminue la quantité d'O₂ utilisable pour la production d'énergie *via* la voie aérobie. Dans un premier temps, les organismes mobiles tenteront d'éviter les zones hypoxiques en se déplaçant. Ils auront tendance ensuite à augmenter la ventilation des surfaces respiratoires (McMahon, 2001). À plus long terme, les espèces les mieux adaptées modifieront leur système de transport de l'O₂ par exemple en changeant l'affinité des pigments respiratoires pour les molécules d'O₂ (McMahon, 2001). En hypoxie modérée, le métabolisme maximal de l'organisme baissera, mais si l'animal n'a pas besoin de dépenser beaucoup d'énergie, les conséquences de l'exposition à l'hypoxie seront minimes. L'exposition à des conditions hypoxiques plus sévères peuvent en revanche entraîner une baisse de consommation de nourriture et de croissance et une capacité plus réduite d'éviter un prédateur. Ultiment, certaines espèces diminueront à court terme leur métabolisme global (i.e. dépression métabolique). Cette dernière induit principalement une diminution drastique de la synthèse de protéines et de glucose et la modification de l'utilisation de certaines enzymes (Guppy & Withers, 1999). L'exposition à l'hypoxie à long terme aurait d'importants effets sur la survie, le comportement, la reproduction ou encore la croissance (Levin *et al.*, 2009). Dans une méta-analyse, intégrant 206 espèces marines, il a été montré que la concentration médiane létale, LC50 (\pm SE), de tous les organismes testés était de $1,60 \pm 0,12$ mg de O₂ L⁻¹, soit sous le seuil du 2,0 ml L⁻¹, mais certaines espèces plus sensibles montraient des réponses bien avant ce seuil. Ainsi, les crustacés se classaient parmi les organismes les plus sensibles à l'hypoxie, devant les poissons et les mollusques (Vaquer-Sunyer & Duarte, 2008).

Enfin, le pH de l'eau de mer a de nombreux effets sur le métabolisme, principalement sur la régulation acide-base (e.g. Fehsenfeld & Weihrauch, 2013 ; Hans *et al.*, 2014). En

effet, l'équilibre du pH interne est déterminant pour de nombreux processus physiologiques, comme la synthèse des protéines, la régulation osmo-ionique, ou encore le fonctionnement des enzymes et l'affinité entre les pigments respiratoires et l'O₂ (Fabry *et al.*, 2008). La diminution extracellulaire du pH perturbe la régulation acide-base de l'organisme et l'efficacité respiratoire. Dès lors, l'individu mobilisera presque exclusivement son énergie au maintien de l'homéostasie. Les protéines de l'hémolymphe, principalement les hémocyanines, et les ions bicarbonates peuvent jouer le rôle de tampon des variations de pH interne afin de maintenir ce dernier stable (Pane & Barry, 2007 ; Spicer *et al.*, 2007; Dissanayake *et al.*, 2010). Cependant, ce maintien à long terme de l'homéostasie lorsque les conditions hypercapniques (niveaux de haute pCO₂) sont maintenues, peut être très coûteux d'un point de vue énergétique (Whiteley, 2011) et les organismes pourraient ne pas être en mesure de soutenir une telle demande énergétique sur de longues périodes. Certains organismes diminueront leur métabolisme global (i.e. dépression métabolique, Reipschläger & Pörtner, 1996) dans certains compartiments cellulaires en utilisant notamment la production d'énergie *via* la voie anaérobie afin de maintenir la régulation du pH. Ultiment, les ions bicarbonates seront davantage sollicités pour la régulation du pH que pour les processus de minéralisation et calcification, pouvant affecter ainsi la structure de la carapace de nombreux organismes calcifiants (Whiteley, 2011).

Ces différents facteurs environnementaux sont susceptibles d'interagir : il a ainsi été démontré que la température interagissait synergiquement avec l'hypoxie (Fig. 1) et augmentait la LC50 de 16 % lorsque les organismes marins étaient exposés à une combinaison de température et d'hypoxie (Raquel Vaquer-Sunyer & Duarte, 2011). Le changement dans la réponse à un facteur de stress peut exercer une pression sélective sur différents traits physiologiques, qui augmentent *in fine* la sensibilité ou la tolérance à un autre facteur de stress combiné (Kroeker *et al.*, 2017 ; Fig. 1 et 2). Par exemple, comme le taux métabolique et la demande en O₂ augmentent avec l'accroissement de la température, et que l'hypoxie limite la disponibilité de l'O₂ pour l'organisme, le réchauffement et l'hypoxie sont susceptibles d'interagir et provoquer des effets additifs ou synergiques chez un organisme (Fig. 1). Ainsi, dans son hypothèse d'OCLTT « oxygen and capacity limitation of thermal

tolérance », Pörtner (2010) stipule que l'exposition à une température élevée, au-delà de l'optimum thermique, devrait réduire la tolérance à l'hypoxie et que l'exposition à une faible concentration en O₂ réduirait la tolérance thermique du fait de l'incapacité de fournir de l'O₂ aux tissus. Parallèlement, la diminution du pH affecte plusieurs mécanismes qui sont déjà impactés par le réchauffement et l'hypoxie. Lorsqu'en réponse au réchauffement et à l'hypoxie, les organismes abaissent leur métabolisme, le taux d'échange de gaz à travers les surfaces respiratoires est diminué, les réserves d'O₂ s'épuisent et éventuellement le CO₂ commence à s'accumuler, entraînant une diminution encore plus marquée de la performance métabolique d'un individu, du fait de l'interaction synergique potentielle de ces facteurs.

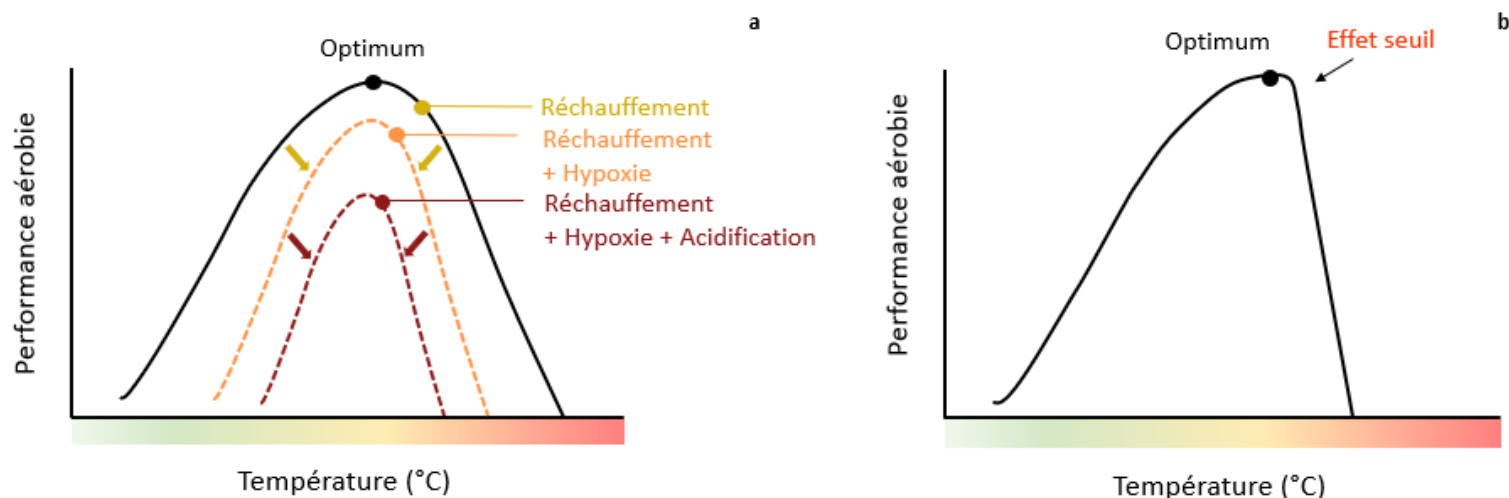


Figure 3. Schéma conceptuel des effets cumulés de plusieurs facteurs de stress sur les performances métaboliques en fonction de la température.

Il existe plusieurs théories de la réponse de la performance d'un individu en fonction des facteurs environnementaux, qui peuvent avoir des effets antagonistes, additifs ou synergiques. La performance d'un organisme est déterminée par sa capacité aérobique (courbe en noir). Pörtner *et al.* (2005) et Pörtner et Farrell (2008) proposent les hypothèses selon lesquelles il y aurait une température optimale pour la capacité d'un animal à dépenser de l'énergie (le registre aérobique), et qu'une augmentation de température par rapport à cet optimum résulterait en une diminution du registre aérobique (point jaune). Comme l'hypoxie est une variable limitante (Fry, 1971), elle diminue le registre aérobique à toutes les températures. La combinaison d'un réchauffement par rapport à la température optimale et de l'hypoxie provoquerait une diminution plus forte du registre aérobique (point orange) que l'un de ces facteurs se produisant seul. Enfin, l'exposition combinée au réchauffement, à l'hypoxie et à l'acidification causerait une dépression potentiellement encore plus marquée de la capacité aérobique. Ainsi, les flèches indiquent la réduction de la fenêtre de préférence thermique et du registre aérobique d'un organisme lorsqu'il est soumis à l'exposition combinée de plusieurs facteurs de stress (en orange : le réchauffement et l'hypoxie, en violet : le réchauffement, l'hypoxie et l'acidification) qui

affectent potentiellement de manière additive ou synergique plusieurs traits physiologiques. Une autre vision conceptuelle (Fig. 3b, Peck, 2002) considère que chaque facteur de stress possède un seuil limite au-delà duquel la performance d'un organisme est fortement diminuée. La position de ce seuil dépend notamment de l'interaction avec d'autres facteurs et de la réponse physiologique encourue. (Figure et explications adaptées de Pörtner *et al.*, 2005 ; Pörtner et Farrell, 2008 ; Kroeker *et al.*, 2017)

Réponses énergétiques des invertébrés marins face aux changements globaux

La condition énergétique est profondément liée au budget énergétique d'un organisme, qui dépend de la composition et des coûts de maintien de ses tissus (McNab, 2002). Une façon de l'estimer est la valeur énergétique, qui se définit par plusieurs paramètres, notamment les réserves énergétiques et la valeur calorique, qui illustre le métabolisme d'un organisme (Lighton, 2018). Cette dernière est depuis longtemps utilisée dans les modèles écologiques afin de définir la qualité d'une proie pour son prédateur (e.g. Lawson *et al.*, 1998 ; Anthony *et al.*, 2000) ou encore de déterminer les flux de matières échangés au sein d'un réseau trophique (McClintock *et al.*, 2006 ; Hondolero *et al.*, 2012). Elle est également utilisée régulièrement pour décrire la condition énergétique d'un organisme (e.g. Schultz & Conover, 1997 ; Brillon *et al.*, 2005).

La valeur calorique est dépendante de la composition biochimique propre des tissus de l'organisme. Ainsi, les contenus en protéines, lipides et glucides sont des paramètres importants qui renseignent sur la valeur énergétique d'un individu, les protéines et les lipides étant tout particulièrement impliqués dans le maintien de la balance énergétique et des réserves de l'organisme (e.g. Berthelin *et al.*, 2000 ; Pérez-Camacho *et al.*, 2003). Par ailleurs, la composition biochimique dépend de nombreux paramètres, comme la saison, la disponibilité en nourriture, le statut reproducteur etc (e.g. Lawrence *et al.*, 1976 ; Ruiz *et al.*, 1992 ; Lambert and Dutil, 1998 ; Ab Lah, 2017). Ainsi, il a été montré que le contenu en lipides et la constitution des réserves chez le poisson capucette *Menidia menidia* (Linnaeus, 1766), était une réponse adaptative aux changements environnementaux au cours des saisons (Schultz & Conover, 1997). Dans un contexte de changements globaux, les fluctuations naturelles environnementales pourraient changer en termes de dynamique spatio-temporelle mais aussi d'amplitude, engendrant potentiellement des variations de la composition

biochimique et/ou de la valeur énergétique, encore non observée actuellement. En effet, des effets synergiques, antagonistes ou additifs pourraient affecter la physiologie des ectothermes en influençant les voies métaboliques, impactant ultimement la condition énergétique des organismes. Quelques études ont d'ailleurs déjà montré l'effet négatif de ces changements environnementaux sur la composition biochimique, notamment les contenus en protéines et lipides de plusieurs espèces de mollusques (Anacleto *et al.*, 2014 ; Ab Lah *et al.*, 2017 ; Tate *et al.*, 2017 ; Venugopal & Gopakumar, 2017). La modification de la composition biochimique peut éventuellement altérer la qualité nutritionnelle de l'organisme (Sahidi et Botta, 2012) qui, d'un point de vue trophique engendre une perte de valeur nutritive pour son prédateur (e.g. Garzke *et al.*, 2016). Dès lors, il devient particulièrement intéressant de considérer ces changements en termes de condition énergétique chez des espèces fourragères. En effet, les informations sur le changement potentiel de la condition énergétique des individus sont particulièrement importantes à intégrer dans des modèles écologiques afin de prévoir les conséquences en termes de changements d'abondance, de dynamiques de population et d'interaction proie-prédateur au sein de l'écosystème (Leaf & Oshima, 2019).

L'être humain a toujours été un grand consommateur de produits de la mer. Dans un contexte de croissance mondiale exponentielle, où la population pourrait dépasser les 12.3 milliards d'individus d'ici la fin du siècle (Gerland *et al.*, 2014), l'approvisionnement alimentaire passe par l'exploitation des ressources aquatiques *via* la pêche et l'aquaculture pour compléter les ressources issues de l'agriculture et de l'élevage. Ainsi, entre les années 1961 et 2016, la consommation mondiale de produits aquatiques (pêche et aquaculture confondus) a augmenté de 3.2 % par an, dépassant l'augmentation annuelle de 2.8 % pour la consommation de viande terrestre (FAO, 2018). La consommation de poisson deviendra un élément de plus en plus important dans la sécurité alimentaire mondiale (Tacon & Metian, 2013 ; FAO, 2018). Les produits aquatiques constituent un élément essentiel de l'alimentation humaine, car ils représentent une excellente source de protéines, de lipides, de vitamines et d'éléments minéraux essentiels. En 2015, environ 17 % des protéines animales consommées dans le monde provenaient des ressources aquatiques (FAO, 2018). Le changement potentiel de la composition biochimique et donc de la qualité nutritionnelle en

réponse aux changements environnementaux sera susceptible d'impacter la qualité organoleptique des produits aquatiques. La qualité organoleptique désigne les propriétés d'un aliment en termes de goût, texture, odeur et aspect visuel. Les contenus en lipides et en acides aminés sont des paramètres influençant fortement la qualité organoleptique. Plusieurs études ont d'ailleurs déjà montré l'impact négatif de facteurs environnementaux isolés sur la qualité organoleptique (i.e. le goût) de plusieurs produits de la mer d'intérêt commercial (Papadopoulos & Finne, 1986 ; Dupont *et al.*, 2014). Les produits de la mer sont considérés comme des mets délicats faisant partie intégrante de nombreuses cultures traditionnelles dans le monde et permettent le développement économique de nombreuses communautés (FAO, 2018).

Le cas de la crevette nordique

Compte tenu de l'importance d'appliquer des approches multifactorielles pour comprendre le devenir de la qualité nutritionnelle et organoleptique d'espèces d'intérêt commercial, potentiellement sensibles comme les ectothermes, dans le contexte du changement global, l'organisme modèle sélectionné pour notre étude est la crevette nordique *Pandalus borealis* (Krøyer, 1838). *Pandalus borealis* est une espèce hermaphrodite séquentielle protandrique, communément retrouvée dans les eaux froides boréales, du golfe du Maine (42° N) à la mer de Barents (82° N) (Shumway *et al.*, 1985 ; Bergström, 2000). La crevette nordique est une espèce sténotherme adaptée au froid, c'est-à-dire qu'elle ne tolère que de faibles variations de températures froides (Somero et Dahlhoff, 2008). Elle est donc considérée comme particulièrement sensible aux températures élevées (Daoud *et al.*, 2007 ; Arnberg *et al.*, 2013 ; Ouellet *et al.*, 2017). La profondeur à laquelle l'espèce est retrouvée (de 50 à 500 m) varie selon la latitude : plus la latitude est élevée et plus les individus vivent en profondeur (Schumway *et al.*, 1985). Elle se retrouve partout dans le Golfe et l'estuaire du Saint-Laurent (ESL), à des profondeurs allant de 150 à 350 m (Simard et Savard, 1990).

Les relevés scientifiques du Ministère Pêche et Océans Canada (MPO, DFO) et les observations des pêcheurs ont montré une diminution marquée de la biomasse de la crevette nordique dans le Golfe et l'ESL depuis 2003-2004 et particulièrement depuis 2015

(Bourdages et Marquis, 2018). La crevette est une espèce d'importance écologique dans son écosystème puisqu'elle constitue une espèce fourragère pour de nombreux maillons trophiques supérieurs comme les poissons de fond (Parsons, 2005). Elle constitue également la 3^{ème} pêcherie la plus lucrative en Amérique du Nord-est après le homard américain *Homarus americanus* (H. Milne-Edwards, 1837) et le crabe des neiges *Chionoecetes opilio* (Fabricius, 1788), avec une valeur totale des débarquements atlantiques estimée à \$315.7 M (DFO, 2018a). Ainsi, le retour de certains prédateurs, comme le sébaste *Sebastes mentella* (Travin, 1951) et *Sebastes fasciatus* (Storer, 1854), et la morue *Gadus morhua* (Linnaeus, 1758) dans le système du Saint-Laurent, et notamment l'ESL, serait en partie responsable de la diminution de la biomasse de crevette. Cependant, comme je l'ai indiqué plus haut, la crevette est une espèce sténotherme adaptée au froid et de ce fait, le changement des conditions environnementales notamment le réchauffement récent des eaux profondes de l'ESL semble être également un facteur majeur dans la diminution des stocks (DFO, 2018b).

Les populations du nord-est du Canada vivent dans des eaux froides à 2-3 °C (Fig. 4). Ces populations pourraient faire face à une augmentation de 4 °C d'ici la fin du siècle (RCP 8.5, IPCC, 2014), les portant à 6 °C, ce qui s'éloigne de la température optimale pour cette espèce (Chabot & Gilbert, 2013). Dans l'ESL, la population subit des conditions environnementales particulières, résultant d'un changement dans la circulation hydrographique actuelle. En effet, les eaux profondes qui pénètrent dans le Golfe par le détroit de Cabot, se caractérisent par un taux de saturation en O₂ de l'ordre de 50-60 % mais elles deviennent de plus en plus hypoxiques en progressant vers la tête du chenal Laurentien (Gilbert *et al.*, 2005). Typiquement, les eaux profondes de l'ESL (> 150 m) sont donc relativement hypoxiques (20-30 % sat.). Par ailleurs, depuis 2010, les eaux profondes de l'ESL se réchauffent rapidement en raison de la plus grande proportion relative d'eaux atlantiques chaudes et pauvres en O₂ dans le mélange pénétrant à la tête du chenal Laurentien (McLellan, 1957 ; Lauzier & Trites, 1958 ; Galbraith *et al.*, 2019). Ce réchauffement s'illustre par des températures de 5-6 °C dans les eaux profondes de l'ESL. En parallèle, le réchauffement des eaux profondes, la stratification thermique, la respiration *in situ* et l'oxydation de la matière organique le long du chenal Laurentien sont responsables de la

diminution marquée de la concentration d'O₂ dans la couche profonde de l'ESL (Gilbert *et al.*, 2005 ; Lavoie *et al.*, 2015). Ces niveaux faibles en O₂ sont à l'origine d'une hypoxie chronique, s'illustrant par une teneur en O₂ dissous de 18 à 25 % sat. dans le fond de l'ESL (Gilbert *et al.*, 2005). Enfin, le phénomène d'hypoxie est majoritairement responsable de la diminution du pH dans les eaux du fond de l'ESL (Chabot & Gilbert, 2013). Le pH de l'ESL a chuté de 0.2 à 0.3 unités, atteignant des valeurs de 7.75 dans les eaux profondes (Mucci *et al.*, 2011; Mucci *et al.*, 2017). Bien que le processus engendrant cette diminution de pH soit différent du phénomène d'acidification des océans, cette chute de pH est considérée comme le pire scénario acidifié prévu pour les eaux de surface des océans pour la fin du siècle (RCP 8.5, IPCC, 2014). Ainsi, le pH du SLE pourraient chuter à 7,4 en 2100 en raison de la superposition des changements globaux et de l'AO (RCP 8.5, IPCC, 2014).

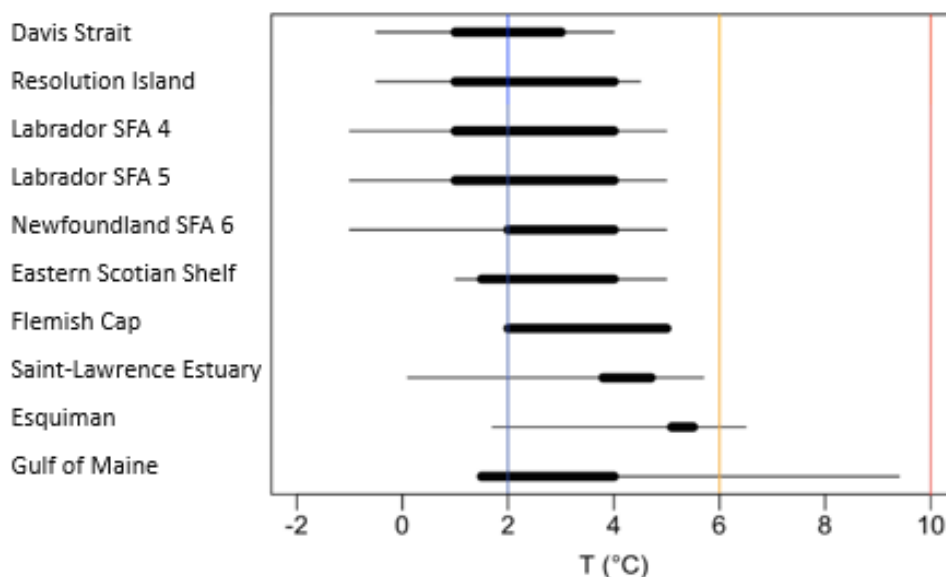


Figure 4. Plage de températures (traits fins) et températures associées aux plus grandes abondances (traits épais) de plusieurs populations de crevette nordique dans le Nord-Ouest de l'Atlantique. Les lignes verticales à 2 et 6 ° C sont les températures auxquelles la plupart des populations de crevettes sont retrouvées. 6 ° C et 10 ° C représentent donc deux scénarios de réchauffement (+ 4 ° C, RCP 8.5, IPCC, 2014) respectivement pour les populations vivant à 2 ° C et 6 ° C (Figure de Denis Chabot, données personnelles pour les populations de l'Estuaire et Esquiman et issues de Haynes *et al.*, 1969 ; Apollonio *et al.*, 1986 ; Parsons *et al.*, 1998 ; Clark *et al.*, 2000 ; Orr *et al.*, 2013 ; Hardy *et al.*, 2015 ; Siferd, 2015).

Objectifs et hypothèses de l'étude

Afin de mieux comprendre si *P. borealis* sera en mesure de faire face aux changements environnementaux prévus dans le contexte de changements globaux, l'objectif principal de l'étude est de **déterminer les effets simples et combinés du réchauffement et de l'acidification des océans et de l'hypoxie sur la valeur énergétique et les qualités nutritionnelle et organoleptique de cette espèce**. Pour répondre à cet objectif, deux expériences ont été réalisées, répondant chacune à un sous-objectif particulier. Le 1^{er} sous-objectif visait à déterminer les effets des changements globaux isolés et combinés sur la valeur calorique et les contenus en lipides et en protéines de la crevette nordique, composants majeurs qui influencent la condition énergétique de l'organisme. Le 2^{ème} sous-objectif avait pour but de comprendre quels sont les effets des changements globaux isolés et combinés sur les qualités nutritionnelle et organoleptique de la crevette nordique. Parmi les scénarios testés, il est attendu que les traitements combinés aient des effets plus négatifs pour les organismes que les changements causés par l'exposition aux facteurs isolés. Alors que les traitements combinant haute température et faible pH ne devraient que légèrement affecter les crevettes en raison de la tolérance connue des crustacés à l'AO (Melzner *et al.*, 2009 ; Whiteley, 2011, Byrne & Przeslawski, 2013). L'exposition combinée au réchauffement, à l'AO et à l'hypoxie pourrait entraîner des réactions plus drastiques, du fait d'importants effets synergiques négatifs (Pörtner *et al.*, 2005). Dans ce dernier scénario, la survie et le contenu énergétique, *via* la valeur calorique et les contenus en lipides et protéines, seraient considérablement réduits et les qualités nutritionnelle et organoleptique seraient fortement dégradées.

CHAPITRE 1

RÉPONSE DE LA VALEUR ÉNERGÉTIQUE DE LA CREVETTE NORDIQUE *PANDALUS BOREALIS* À L'EXPOSITION COMBINÉE DU RÉCHAUFFEMENT, DE L'ACIDIFICATION DES OCÉANS ET DE L'HYPOXIE

La valeur calorique et la composition biochimique des tissus (protéines, lipides etc.) dépendent de la quantité et la qualité de la nourriture consommée par un organisme d'une part mais également de la qualité de l'environnement physique, notamment les variables abiotiques (température, pH, oxygène etc.). Ces paramètres énergétiques peuvent donc être impactés par les conditions environnementales (saison, disponibilité de nourriture etc.). Dans un contexte de changements globaux, les variations environnementales pourraient dépasser les fluctuations naturelles actuelles, exacerbant les variations de la valeur calorique et/ou de la composition biochimique des organismes. À ce jour, très peu d'études ont été consacrées à l'impact de multiples facteurs de changement global sur la physiologie des organismes marins, même s'ils sont simultanément soumis à de multiples facteurs de stress susceptibles d'interagir dans leur environnement. La crevette nordique *Pandalus borealis* est une espèce sténotherme adaptée au froid et est donc considérée comme particulièrement sensible au réchauffement. L'étude des réponses physiologiques de cette espèce aux changements environnementaux combinés est particulièrement pertinente pour la population de l'estuaire du Saint-Laurent, car cette dernière est déjà soumise simultanément au réchauffement, à l'hypoxie et à la diminution du pH chroniques. L'objectif principal est de déterminer les effets simples et combinés du réchauffement, de l'acidification et de l'hypoxie sur la valeur calorique et les contenus en protéines et lipides de *P. borealis*. Pour ce faire, les crevettes ont été exposées 30 jours à la combinaison de trois températures, deux pH et deux niveaux d'oxygène. Les résultats ont montré que l'exposition à une température élevée, un pH bas et un faible niveau d'oxygène n'affectent pas de manière significative la valeur calorique globale et réelle du muscle, ni les contenus totaux en protéines et en lipides du muscle mais diminue considérablement la survie pour certains traitements. Globalement, nos résultats montrent le maintien de la valeur énergétique de cette espèce pour le consommateur et le prédateur naturel dans le contexte des changements globaux. Toutefois, l'augmentation de la mortalité observée dans les scénarios environnementaux futurs (température élevée, bas pH et hypoxie) suggère fortement la diminution de la biomasse, qui aura des retombées sur les écosystèmes et les communautés côtières qui dépendent des activités liées à l'industrie de la pêche à la crevette, si cette dernière s'avère être une espèce clé.

Mots clés : Composition biochimique, valeur calorique, lipides, protéines, changement global, crustacés, pêcheries, température, pH, oxygène

ENERGETICS OF THE NORTHERN SHRIMP *PANDALUS BOREALIS* UNDER THE COMBINED EXPOSURE TO OCEAN WARMING, ACIDIFICATION AND HYPOXIA

Mathilde Chemel¹, Piero Calosi¹, Denis Chabot², Tanya Hansen², Fanny Noisette³

¹ Département de biologie, chimie et géographie, Université du Québec à Rimouski, Rimouski QC, G5L 3A1, Canada

² Institut Maurice-Lamontagne, Pêches et Océans Canada, Mont-Joli, QC, G5H 3Z4, Canada

³ Institut des sciences de la mer de Rimouski, Université du Québec à Rimouski, Rimouski, QC, G5L 3A1, Canada

1.1 INTRODUCTION

Caloric value of marine organism is an important ecological parameter. It provides information on the quality of a prey for its predator (Anthony *et al.*, 2000), and on the energy flowing through a food web (McClintock *et al.*, 2006; Hondolero *et al.*, 2012). This parameter is also commonly used as physiological status proxy of an organism (Schultz & Conover, 1997). Lipids and proteins greatly contribute to an organism's energy resources (Berthelin *et al.*, 2000; Camacho *et al.*, 2003) and their relative proportion determine organism's caloric density. Seasonality, food availability and quality and reproductive status are known as key determinants driving biochemical composition and energy content of an organism (e.g. Ruiz *et al.*, 1992; Lambert & Dutil, 1997). Furthermore, changes in abiotic factors affect individuals' energy condition. In this sense, Schultz and Conover (1997) showed that an organism lipid content and energy reserves represent an adaptive response to seasonality within its habitat. Therefore, within the context of the ongoing global change, the simultaneous rapid changes of several environmental parameters to levels which are often beyond the current fluctuations, may further exacerbate biochemical changes experienced by organisms.

The increasing concentration of carbon dioxide (CO₂) and other greenhouse gases in the atmosphere, as a consequence of increasing human activities, is the main driver for global ocean warming (OW) (Mitchell, 1989; IPCC, 2014), resulting in an increase of 0.11 [0.09-0.13] °C per decade in seawater temperature over the last 30 years (IPCC, 2014). At the same time, ocean has absorbed more than a third of atmospheric CO₂ emission (Sabine *et al.* 2004). This absorption, leading to a decrease in carbonate ions concentration, and an increase in seawater bicarbonate ion concentration, has led to a decrease in seawater pH of 0.1 since 1850 (Caldeira & Wickett, 2003 ; Doney *et al.*, 2009). This process is now commonly known as anthropogenic ocean acidification (OA) (Zeebe & Wolf-Gladrow, 2001). Finally, ocean deoxygenation, the

loss of oxygen (O₂) in the ocean (Gruber, 2011), is an increasingly important stressor (Rabalais *et al.*, 2010), threatening the survival of marine organisms and health of aquatic ecosystems (Levin *et al.*, 2009). Hypoxic zones are nowadays more numerous, larger in size, more frequent and severe and they last longer; being present both in coastal zones as well as in deep waters (Matear & Hirst, 2003; Breitburg *et al.*, 2018). While coastal hypoxia is the indirect result of eutrophication (Diaz, 2001; Diaz & Rosenberg, 2008), deep-sea hypoxia is directly caused by global warming (Matear & Hirst, 2003) *via* the differential heating of the surface and the deep-water which causes ocean layers stratification, reducing ocean mixing and the transport of O₂ in the deeper zones of the ocean. These multiple environmental factors are thought to greatly affect the physiology of marine ectotherms, since their body temperature largely depends on the environmental temperature (Angiletta, 2009) and their homeostatic abilities are in general rather limited (Metzger *et al.*, 2007; Whiteley *et al.*, 2011).

Temperature is largely known to influence physiological process, such as proteins and lipids synthesis and energy metabolism, by changing cell kinetics and increasing energy demand with increasing temperature. For example, energy conditions and reserves of adult females of the Northern shrimp *Pandalus borealis* (Krøyer, 1838) were lowered when shrimps were exposed to elevated temperature (Brillon *et al.*, 2005). Exposure to elevated temperature also reduced fatty acid content in the adults of the grooved carpet shell, *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758) and the Japanese carpet shell, *Ruditapes philippinarum* (Adams and Reeve, 1850) (Anacleto *et al.*, 2014). Finally, a similar pattern was observed in the sea snail *Turbo militaris* (Reeve, 1848) (Ab Lah, 2017). On the other hand, low pH could change energy available to support growth and development, especially by affecting internal pH regulation, osmoregulation process and energy metabolism (Melzner *et al.*, 2009). Exposure to hypercapnia (high *p*CO₂ conditions) and low pH appears to severely lower protein biosynthesis at cell and tissue levels in fishes (Langenbuch & Pörtner, 2003; Stapp *et al.*, 2015) and invertebrates (Langenbuch *et al.*, 2006). In addition, hypoxia challenges marine organism's survival, physiology and behavior, as it directly reduces the available amount of oxygen for the tissues and for mitochondrial respiration. Organisms exposed to hypoxia first attempt to find more oxygenated water if they can, or face hypoxia by reducing energy costly activities such as locomotion and digestion. In more severe hypoxic conditions, they attempt to maintain oxygen delivery to tissues *via* numerous mechanisms: e.g. the increase of respiratory pigments concentration and affinity for O₂ in circulatory fluid and the adjustment of branchial haemolymph flow (Hagerman, 1998). Under yet more severe hypoxia, organisms either die of asphyxiation or, if they can, reduce energy expenditure below maintenance level by down-

regulating metabolic processes, such as proteins synthesis or production of regulatory enzymes (Guppy & Withers, 1999), and sometimes shift to anaerobic metabolism for short periods (Hagerman, 1998). Mild, non-lethal hypoxia is known to reduce feeding rates (Widdows *et al.*, 1989), which can therefore affect energy availability and in a longer term reserves. Hypoxia also impacts the synthesis of proteins (Guppy & Withers, 1999; Wu, 2002) and lipids (Zenteno-Savín *et al.*, 2006), especially *via* lipid peroxidation.

Although it is paramount to investigate the impact of multiple global change drivers on the biochemical and energetic response of marine organisms, very few studies have done so (Hondolero *et al.*, 2012; Tate *et al.*, 2017; Schaafsma *et al.*, 2018). No study to date, to our knowledge, has investigated the potential effects of the combined exposure to OW, OA and hypoxia on the physiological response of marine species. In order to help filling this knowledge gap, this study aimed at investigating the impact of these multiple global change drivers in isolation and combination on the energetic value and biochemical composition (i.e. proteins and lipids contents) of a marine ectotherm. The Northern shrimp *Pandalus borealis* (Krøyer, 1838) is an ideal study species to define the sensitivity to global change in cold adapted marine stenotherm of great ecological and economic importance. In this sense, in the North Atlantic *P. borealis* is an important prey for highly valuable fish species (Parsons, 2005), but represents also the third most lucrative fishery in Eastern Canada, with a total landing value in Atlantic Canada of \$315.7 M (DFO, 2018a). However, shrimp populations from the Estuary and Gulf of Saint-Lawrence (EGSL) and Gulf of Main are greatly declining in recent years (DFO, 2018b; Hunter *et al.*, 2018), resulting in the closure of the Maine fishery in 2013 and a 26 % reduction in total allowable catch (TAC) in the EGSL from 2015 to 2017 (Bourdages & Marquis, 2019). These reductions in abundances may be related to biotic factors in the Saint-Lawrence Estuary (SLE) (Bourdages *et al.*, 2018) but mostly driven by ongoing climate change in all regions, as the Northern shrimp is a cold stenotherm considered particularly sensitive to increasing temperatures (Daoud *et al.*, 2007; Arnberg *et al.*, 2013; Ouellet *et al.*, 2017). In addition, rare multi-stressor studies showed that *P. borealis* would be sensitive to low pH and decreased oxygen in isolation and combination with elevated temperature (Dupont-Prinet *et al.*, 2013; Arnberg *et al.*, 2018). Studying the responses of *P. borealis* to simultaneous environmental fluctuations is particularly relevant for the shrimp stock of the SLE, as the EGSL populations are already facing a simultaneous increase in temperature (Galbraith *et al.*, 2019), hypoxia (Gilbert *et al.*, 2005; Lavoie *et al.*, 2017) and a decrease in pH (only for SLE population Mucci *et al.*, 2011; Lavoie *et al.*, 2017) due to changes in ocean circulation (McLellan, 1957; Lauzier

& Trites, 1958; Galbraith *et al.*, 2019). EGSL populations could be exposed much earlier than other stocks to severe environmental conditions they could not tolerate. Since these stocks are all important commercially, it is particularly important to determine what they will be able to tolerate in the face of ongoing global change. We determined its energetic responses to the combined exposure to elevated temperature, low pH/high $p\text{CO}_2$ and low oxygen conditions. Over the different scenarios tested, cumulative factors are expected to have greater negative effects compared to single factors, with additive or synergistic responses (Côté *et al.*, 2016). While low pH is expected to exert a less severe effect on shrimps, because of the known tolerance of crustaceans to OA (Melzner *et al.*, 2009; Whiteley, 2011; Byrne & Przeslawski, 2013), the combined exposure to the ‘deadly trio’ (i.e. OW, OA and hypoxia - Gruber, 2011) is hypothesized to lead to profound impacts, due to severe negative synergistic effects (Pörtner *et al.*, 2005).

1.2 METHODS

1.2.1 Specimens collection, transport and maintenance

Adult females of Northern shrimp *Pandalus borealis* (Krøyer, 1838) (mean \pm SE carapace length (CL) 24.22 ± 0.19 mm) were collected in the Saint-Lawrence Estuary (SLE) near Rimouski ($\sim 49^\circ 00' \text{N}$, $68^\circ 30' \text{W}$, Quebec, Canada) in June 2017 and near Betsiamites ($\sim 48^\circ 53' \text{N}$, $68^\circ 30' \text{W}$, Quebec, Canada) in September 2017. Shrimp were sampled using a rigid frame trawl at depth ~ 120 - 150 m and each haul was ~ 20 min long at an average speed of 2.1 knots. Females were selected for this study because they are the main target of the fishery and because they have been shown to be more sensitive than males to hypoxia (Dupont-Prinet *et al.* 2013).

Following capture, shrimp were maintained in 750 L tanks supplied with cooled aerated sea water and transported by truck to the Maurice-Lamontagne Institute, Fisheries and Oceans Canada (Mont-Joli, Qc, Canada) < 10 h after collection. Upon arrival at the Institute, shrimp were acclimated to laboratory conditions for 5–8 months in 1700 L rectangular tanks continuously supplied with filtered sea water from the SLE (semi-open system). They were maintained at 4.5°C , salinity of 28, normoxia (dissolved oxygen, DO, $> 90\%$ saturation relative to air [% sat. hereafter]), pH of ~ 7.9 (total scale, pHT) and under natural photoperiod. During acclimation and experiment, a lid covered tanks to keep organisms under dark conditions to reduce light level and help maintain a constant temperature. They were fed *ad libitum* twice a week with equal parts of frozen and finely chopped capelin and shrimp. The quality of the food

was similar to their natural diet (Hopkins *et al.*, 1993). Uneaten food was removed 24 h before each feeding period in order to prevent the proliferation of bacteria and ammonia accumulation.

1.2.2 Experimental design and set up

In order to investigate the effect of combined ocean change drivers on energetic value and biochemical composition, two experimental designs were employed. *Experimental design #A* explored the impact of ocean warming (OW) and ocean acidification (OA), in isolation and combined on shrimp energetics. Female shrimp were exposed to three levels of temperature (2, 6 and 10 °C) and two levels of pH (7.75 and 7.4) in a full orthogonal experimental design composed of six treatments in total. These conditions were selected because most *P. borealis* stocks are most abundant at temperatures of 1–4 °C in the Norwest Atlantic (Orr & Sullivan, 2013; Siferd, 2015). These populations may face a 4 °C increase by 2100, bringing them to 6 °C (RCP 8.5, IPCC, 2014). However, shrimp from the Estuary and Gulf of St. Lawrence (EGSL) are most abundant in 4–5.5 °C waters, warmer than any other shrimp stock in the Northwest Atlantic. Thus, the future warming scenario for this population was set to 10 °C. EGSL shrimp. Therefore, the 2 °C treatment was considered the optimal temperature. pH levels were chosen to represent current (7.75) (Mucci *et al.*, 2011 and 2017) and predicted bottom conditions for 2100 in the SLE (7.40) (RCP 8.5, IPCC, 2014). *Experimental design #B* explored the effect of hypoxia on shrimp physiology combined to the exposure to current and future new scenarios of OW and OA combined (current and future horizons). In this latter design, two additional treatments were added to explore the effect of hypoxia (30 % O₂ sat.) crossed with preferred conditions (pH 7.75, 2 °C) and with predicted conditions at the end of the century (pH 7.4, 10 °C) (Fig. 5).

Finally, the lethal hypoxia threshold is between 16 and 22 % sat. at 5 and 8 °C for female *P. borealis* from the SLE (Dupont-Prinet *et al.* 2013). Therefore 30 % saturation relative to air (% sat. hereafter) is a non-lethal (chronic) level of hypoxia commonly encountered by shrimp in the EGSL (Dupont-Prinet *et al.*, 2013).

Designs #A and #B were undertaken simultaneously within the same experimental system (see below Fig. 5 and 6), consisting of a total of eight treatments with two replicate tanks *per* treatment : control pH and temperature (2C : pH 7.75, 2 °C), control pH and elevated temperature (6C : pH 7.75, 6 °C), control pH and extreme temperature (10C : pH 7.75, 10 °C), low pH and controlled temperature (2A : pH 7.4, 2 °C), low pH and elevated temperature (6A : pH 7.4, 6 °C), low pH and extreme temperature (10A : pH 7.4, 10 °C), control pH and

temperature and hypoxia (2CH : pH 7.75, 2 °C, 30 %) and low pH, extreme temperature and hypoxia (10AH : pH 7.4, 10 °C, 30 %).

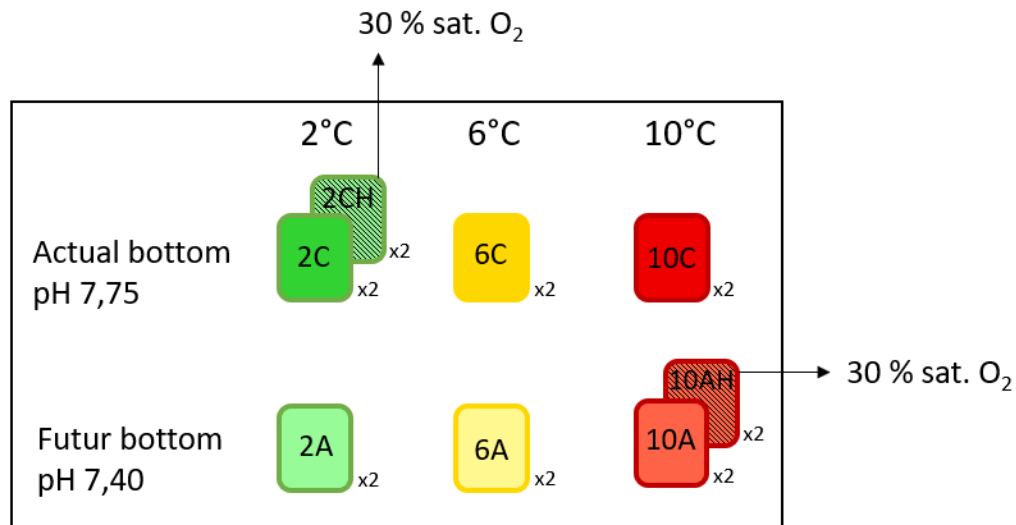


Figure 5. Schematic representation of the experimental design investigating the effect of elevated temperature, low pH and hypoxia.

Treatment symbols correspond to 2C: pH 7.75, 2 °C (dark green); 2A: pH 7.4, 2 °C (light green); 2CH: pH 7.75, 2 °C, O₂ sat. 30 % (light striped green); 6C: pH 7.75, 6 °C (dark orange); 6A: pH 7.4, 6 °C (light orange); 10C: pH 7.75, 10 °C (dark red); 10A: pH 7.4, 10 °C (light red); 10AH: pH 7.4, 10 °C, O₂ sat. 30 % (light striped red).

Temperature control system

pH and oxygen control system

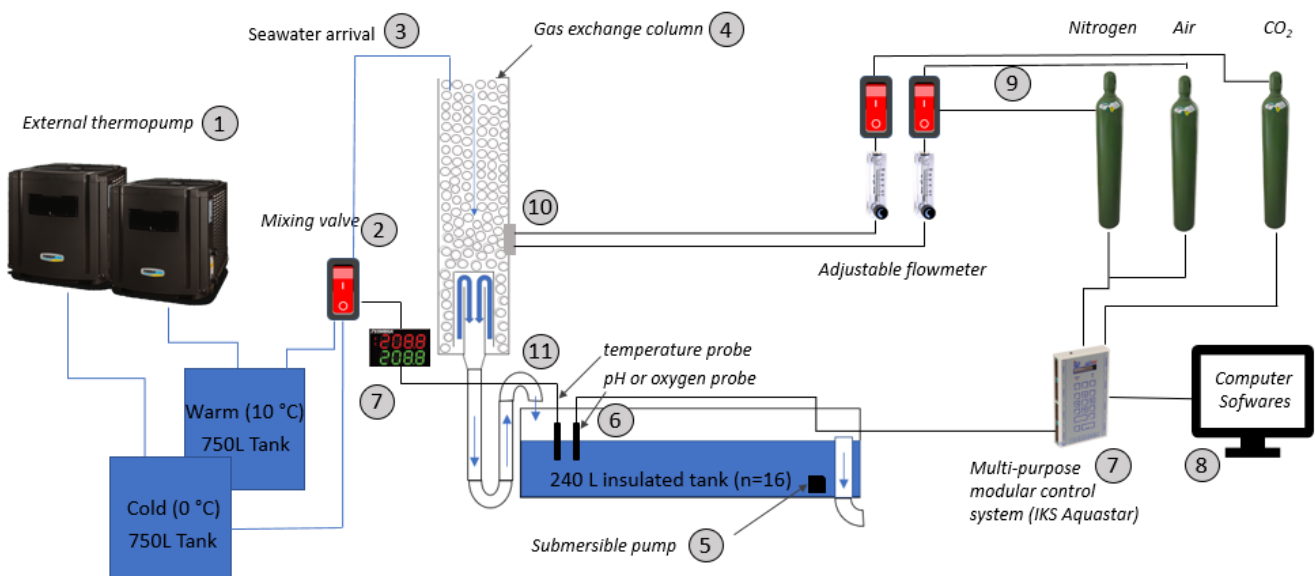


Figure 6. Schematic representation of the experimental set-up used at the DFO Maurice Lamontagne Institute (Mont-Joli, Qc, Canada).

(1) Header tanks supplied with natural sea water from the SLE. Water was maintained at 0 and 10 °C and (2) mixed in appropriate proportion to control temperature (3) arriving in the (4) gas exchange column, associated with each experimental tank, the column was filled with plastic hollow balls (Jaeger

Tri-Packs® column packing, Fabco Plastics, Montreal, Canada) to increase the surface area of water in contact with the gas injected into the column. (5) In each tank, water was recirculated by a submersible pump, in order to improve water flow and gas mixing. (6) Temperature was measured and (7) regulated by a controller that determined the proportion of cold and warm water required. (6) pH and oxygen were measured and regulated by a feedback system (IKS Aquastar, Karlsbad, Germany) coupled with a (8) computer that regulated (9) the addition of CO₂ and N₂ (10) directly in the gas exchange column.

The experimental set up (Fig. 6) consisted of two 750 L header tanks maintained at 0 and 10 °C by an automatic system with an external thermopump (Gell'Air, Mont-Joli, QC, Canada) and 16 independent flow-through 240 L experimental tanks (i.e. two *per* treatment). A controller (1/16 DIN Micromega autotune PID Temperature, Omega Engineering inc., Norwalk, CT, USA) and mixing valves (sv3109, Omega Engineering inc.) mixed the appropriate proportion of cold and warm water (total 3.5 L min⁻¹) to control the temperature reaching each experimental tank. This water arrived at the top of a gas exchange column where pH and dissolved oxygen (DO) were adjusted by a feedback system, IKS Aquastar (1008 and 1001 modules IKS Aquastar, Karlsbad, Germany) that regulated the addition of CO₂ and N₂ directly in the column. The water was recirculated within each experimental tank by a submersible pump (1048, Eheim, Stuttgart, Germany) to improve water flow and gas mixing.

Following acclimation to laboratory conditions, shrimps (n = 640, between 30 and 50 *per* treatment) were haphazardly transferred to the experimental setup and they were gradually brought to their respectful conditions (0.15 pH unit day⁻¹, 1.5 °C day⁻¹, ~ 15 % DO day⁻¹).

At the end of the 30-d exposure time, 10 shrimps *per* treatment (i.e. 5 *per* tank) were euthanized and tissue samples were then flash-frozen for further biochemical analyses (see section 1.2.5 to 1.2.7).

1.2.3 Seawater monitoring environmental and carbonate chemistry calculations

Temperature, oxygen saturation (DO), salinity and pH_T values were measured daily, using respectively, a thermocouple (HH802U, Omega Ltd, Manchester, UK), an oxygen meter (OXYROB10, Pyrosciences, Aachen, Germany), a conductivity portable meter (Proflin Cond3110, WTW, Weilheim, Germany) and a pH meter (914, Metrohm AG, Herisau, Switzerland) calibrated using NBS then TRIS buffers; to convert the pH values to the total scale (Dickson *et al.*, 2007). DO was continuously controlled and adjusted for the hypoxia treatment, and O₂ levels were measured once a week by titration using a method modified from Winkler (1988) and described by Jones *et al.* (1992).

Seawater samples (vol. = 500 mL) were collected weekly in the header tanks and two random experimental tanks for total alkalinity (TA) and dissolved inorganic carbon (DIC)

determination. Water samples were poisoned with 250 μL of saturated HgCl_2 solution to stop biological activity from altering the sample, and stored in the dark at stable temperature conditions pending titration. Total alkalinity was determined by 0.01 N HCl potentiometric titration (Dickson *et al.*, 2007), using an automatic titrator (848 Titrino Plus, Metrohm). Dissolved inorganic matter (DIC) determination was conducted by flow injected analysis gas exchange conductivity method, as described by Hall & Aller (1992), using a conductimeter combined to gas exchange column (Dionex ICS-1000, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MS, USA). DIC was transformed in CO_2 from in presence of 10 mM HCl solution and diffused through the permeable cell membrane. 10 mM KOH solution circulates on the other side of the cell membrane and transformed back CO_2 into dissolved ions (carbonates). Conductivity of KOH solution is continuously measured and when KOH solution is transporting carbonate ions, conductivity drops as carbonate conducts less well than KOH. The conductivity difference is proportional to DIC concentration (see schema in Annex 1).

Other carbonate system parameters (partial pressure of CO_2 ($p\text{CO}_2$)), concentrations of bicarbonate ($[\text{HCO}_3^-]$) and carbonate ions ($[\text{CO}_3^{2-}]$) were calculated using measured pH_T , temperature, salinity, TA and DIC values using CO_2SYS software (Lewis & Wallace, 1998), with dissociation constants from Millero (2010). For Ω_{cal} and Ω_{ara} calculation, as the constants are not applicable at temperatures below 2 $^\circ\text{C}$, only temperatures ≥ 2 $^\circ\text{C}$ were selected for the control pH and cold temperature scenario (2C, $n = 51$), the low pH and cold temperature scenario (2A, $n = 40$) and the control pH, cold temperature and hypoxia scenario (2CH, $n = 46$). Mean physico-chemical parameters for the duration of the experiment are given in Table 4.. Mean physico-chemical parameters are given in Table 1 for the duration of the experiment

1.2.4 Experimental protocol, survival determination and tissue preservation

During the 30-d exposure period, survival and moulting events were monitored daily, always between 8h30 and 9h00. Dead individuals were removed in order to prevent proliferation of bacteria and ammonia accumulation. Survival is presented as the total survival rate at the end of the experiment and expressed as a percentage. At the end of the exposure period, individuals were carefully and rapidly blotted dry with a tissue paper and weighted using a precision scale (Mf-300, A&D Company, Tokyo, Japan; 0.001 g precision). Individuals were kept on ice during transfer between the tank and the table where they were measured, photographed and euthanized quickly by separating the cephalothorax from the body using a ceramic knife.

Table 1. Physico-chemical parameters of the different seawater treatment (mean \pm SD): temperature ($^{\circ}\text{C}$), pH (Total scale), salinity, total alkalinity (TA— $\mu\text{mol kg}^{-1}$), total carbon dioxide (DIC— $\mu\text{mol kg}^{-1}$), carbon dioxide partial pressure ($p\text{CO}_2$ — μatm), bicarbonate concentration (HCO_3^- — $\mu\text{mol kg}^{-1}$), carbonate concentration (CO_3^{2-} — $\mu\text{mol kg}^{-1}$) and Ω_{calcite} and $\Omega_{\text{aragonite}}$.

Treatment	O ₂ (% sat.)	Salinity	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	pH _T	DIC ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	TA ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	$p\text{CO}_2$ (μatm)	[HCO_3^-] ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	[CO_3^{2-}] ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	Ω_{calcite}	$\Omega_{\text{aragonite}}$
2C	99.15 \pm 1.56 ^a	28.98 \pm 1.23 ^a	2.07 \pm 0.32 ^a	7.33 \pm 0.27 ^a	2331.86 \pm 85.82	2211.35 \pm 44.20	2567.38 \pm 1158.51	2155.03 \pm 46.96	22.68 \pm 17.10	0.53 \pm 0.42	0.33 \pm 0.26
2A	98.99 \pm 1.54 ^a	29.03 \pm 1.22 ^a	1.97 \pm 0.27 ^a	7.17 \pm 0.22 ^b	2406.81 \pm 97.25	2213.23 \pm 42.59	3569.29 \pm 1400.51	2176.56 \pm 43.73	14.77 \pm 10.05	0.38 \pm 0.25	0.23 \pm 0.16
2CH	31.29 \pm 5.41 ^b	29.46 \pm 0.88 ^a	2.27 \pm 0.32 ^a	7.48 \pm 0.30 ^a	2288.56 \pm 109.28	2221.08 \pm 38.37	1940.72 \pm 1221.04	2141.18 \pm 61.77	32.14 \pm 19.40	0.75 \pm 0.48	0.47 \pm 0.30
6C	99.41 \pm 1.80 ^a	29.38 \pm 0.89 ^a	5.96 \pm 0.17 ^b	7.44 \pm 0.33 ^a	2284.43 \pm 116.07	2216.13 \pm 39.97	2289.39 \pm 1502.79	2130.45 \pm 67.03	34.63 \pm 23.12	0.83 \pm 0.56	0.51 \pm 0.35
6A	98.09 \pm 2.29 ^a	28.99 \pm 1.23 ^a	6.05 \pm 0.15 ^b	7.10 \pm 0.25 ^b	2423.05 \pm 125.37	2211.35 \pm 44.20	4435.77 \pm 1968.05	2173.45 \pm 43.02	15.36 \pm 11.26	0.36 \pm 0.26	0.22 \pm 0.16
10C	98.94 \pm 1.70 ^a	29.07 \pm 1.20 ^a	9.91 \pm 0.15 ^c	7.34 \pm 0.34 ^a	2298.39 \pm 116.78	2213.95 \pm 42.49	2947.59 \pm 1790.43	2130.70 \pm 66.61	32.62 \pm 25.71	0.78 \pm 0.61	0.48 \pm 0.38
10A	98.84 \pm 2.29 ^a	29.38 \pm 0.91 ^a	9.94 \pm 0.22 ^c	7.14 \pm 0.28 ^b	2384.76 \pm 131.88	2216.13 \pm 39.97	4344.72 \pm 2400.18	2166.53 \pm 50.57	20.17 \pm 14.83	0.46 \pm 0.35	0.29 \pm 0.22
10AH	33.45 \pm 4.39 ^b	29.46 \pm 0.89 ^a	9.96 \pm 0.13 ^c	7.19 \pm 0.28 ^b	2369.45 \pm 129.04	2221.08 \pm 38.37	3952.05 \pm 2340.85	2167.63 \pm 49.22	21.73 \pm 13.98	0.49 \pm 0.33	0.31 \pm 0.20

The entire cephalothorax was put in Eppendorf tube and flash-frozen in liquid nitrogen, to be later used for calorimetric analyses for human part (see section 1.2.6). The carapace was then carefully removed with plastic pliers and the soft tissues were separated in different samples (Fig. 7) using the same ceramic knife, placed in individual Eppendorfs and then flash-frozen for nutrient content measurements. Supplementary whole shrimp (five indiv. *per* tank, 10 indiv. *per* treatment) were weighted, euthanized as described above and put in 10 mL Falcon tube and flash frozen in liquid nitrogen to be later used for calorimetric analyses for the determination of shrimp's caloric content within the context of trophic importance of this species (see section 1.2.6).

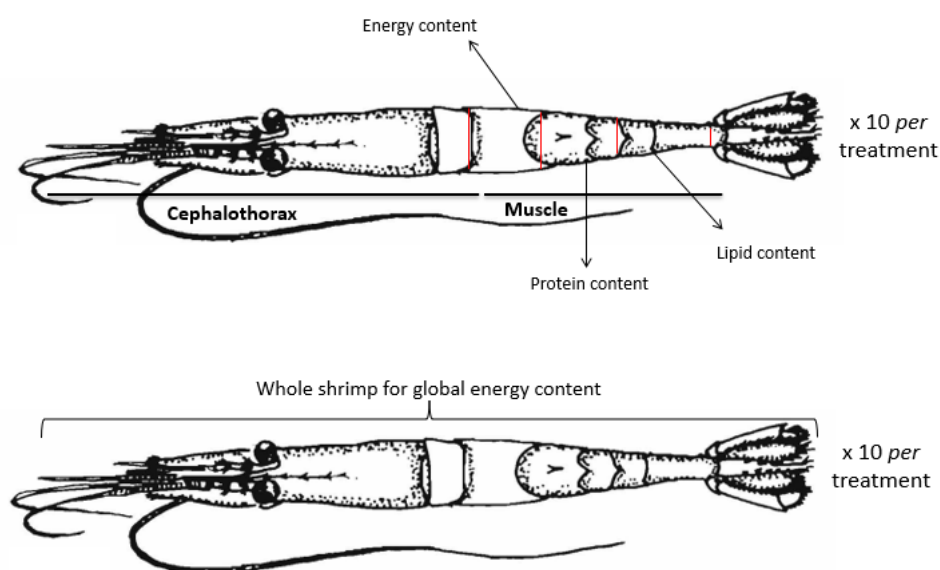


Figure 7. Schematic representation of tissue sample conserved for biochemical analyses.

1.2.5 Determination of energy content

In order to determine the energetic value of shrimps in the context of human consumption, 67 muscle samples (i.e. 1 to 5 indiv. *per* tank, 5 to 10 indiv. *per* treatment), the part of the shrimp body commercialized as food, were analyzed using a semi-microbomb calorimeter (6725, Parr Instrument Co., Moline, IL, USA) coupled with a precision thermometer (6772, Parr Instrument) and oxygen bomb (1109A, Parr Instrument) as described by Siddon *et al.* (2013) (see protocol details in Annex 2). In order to determine the energy content provided by shrimps to their predators, 10 shrimp *per* treatment were analyzed using a bomb calorimeter (6300, Parr Instrument) and an oxygen bomb (1136, Parr Instrument⁴). Two replicate tissue samples (i.e. technical replicate) were analyzed on each whole shrimp. During total combustion of a sample, nitric acid is formed from nitrogen in the bomb ($\frac{3}{2}\text{O}_2 + \frac{1}{2}\text{N}_2 +$

$\frac{1}{2} \text{H}_2 \rightarrow \text{HNO}_3$). The heat released by a dilute aqueous solution of nitric acid from nitrogen, oxygen and water is equivalent to 1.38 cal mL^{-1} . Wash water from 15 samples have been titrated by NaOH 0.1 N solution and the mean of the formed nitric acid of those 15 samples was calculated and used to correct for nitric acid produced in energy content calculation (Golley, 1961). For entire shrimp caloric density determination, automatic correction applied by the bomb was set according to each sample weight.

In both cases, frozen samples were thawed, weighed with a $\pm 0.0005 \text{ g}$ precision (AG285, Mettler Toledo, Columbus, OH, USA), then dried 48 h at $65 \text{ }^\circ\text{C}$ (GO1340A-1, Lindberg/Blue M, Thermo Fisher Scientific), weighed once again, crushed, powder was homogenized and finally pressed into a pellet form weighing at least 25 mg for microbomb analyses and at least 0.8 g for bomb calorimeter analyses. Calibration was realized respectively with 20 mg and 1 g benzoic acid pellets (6318 cal g^{-1} , Parr Instrument Company) once a day, at the beginning of every measurement period. Average muscle and whole shrimp energy contents of the replicates were expressed in relative terms as kJ g^{-1} dry mass.

In order to control for carbonate content, the amount of ash was estimated for whole shrimp and muscle by incinerating samples in a muffle at $500 \text{ }^\circ\text{C}$ (BF51728C-1 Lindberg/Blue M, Thermo Fisher Scientific) for 24 h. As for all samples, ash content did not exceed 20 % ($17.03 \pm 0.3 \%$), carbonate corrections were neglected (Paine, 1971).

1.2.6 Total lipids quantification

In order to determine energy and nutritional value of shrimp muscle, total lipids were quantified. Lipids were extracted from muscle sample of 60 shrimp, corresponding to 5 to 10 indiv. *per* treatment (i.e. 1 to 5 indiv. *per* tank, same shrimp from caloric density and protein quantification). The lipid extraction was carried out by adding 1 mL of methanol to 200 mg of muscle tissue, placed in a glass vial which was vortexed and then placed 15 min in a sonication bath at $30 \text{ }^\circ\text{C}$ (97044-002, VWR, Radnor, PA, USA). Tert-butyl methyl ether (MTBE) (2 mL) was added and placed again 15 min in a sonication bath at $30 \text{ }^\circ\text{C}$. KCl 0,88 % (900 μL) was added, the tube was vortexed once again and the mixture was centrifuged (5810R, Eppendorf AG, Hamburg, Germany) at 2000 g for 5 min. The upper organic phase was transferred in a glass tube using Pasteur pipette. The lower phase was reextracted with 3 mL MTBE and centrifuged once again at 2000 g for 5 min. Anhydrous sodium sulphate was added in each tube and the solution was homogenized with a Pasteur pipette. The solution was filtered using Pasteur pipette filled with cotton gauze. Combined organic phases were dried in a rotary

evaporator (Savant SPD2010 SpeedVac, Thermo Fisher Scientific) at 45 °C for 2.5 h. When dried, total lipids were weighed with a precision scale (225AC, VWR; 0.00001 g precision).

1.2.7 Total proteins quantification

In order to determine energy and nutritional value of shrimp muscle, proteins content were quantified. Proteins were extracted from 60 muscle shrimp (between 1 and 5 indiv. *per* tank, between 5 and 10 indiv. *per* treatment, same shrimp from caloric density and lipid quantification) following the Bradford method (Bradford, 1976). Frozen muscles were weighted (225AC, VWR; 0.00001 precision) and 200 mg were homogenized (11045011 Polytron, Kinematica, Luzern, Switzerland) with 9.8 mL of 80 mM phosphate buffer (1/50 dilution). The homogenate was diluted 1/30 and 100 µL of each bovine serum albumin (BSA) standards and sample solution (1/300 dilution) were pipetted into a clean, dry test tube and 5 mL of dye reagent (Coomassie Brilliant Blue G-250, Bio-Rad, Hercules, CA, USA) was added. The tube was vortexed and then incubated for 5 min at room temperature before absorbance was measured at 595 nm with a spectrophotometer (Ultrospec 3100 pro, Biochrom Ltd, Cambridge, UK). Every standard and sample were analyzed in duplicates to control for spectrophotometer variation and the mean of the two duplicates was used for statistical analyses.

1.2.8 Statistical analyses

In order to test the effect of global drivers and their interaction on shrimp energy, total lipid and proteins contents for the designs A and B separately, mixed effects models (nlme RStudio package, Pinheiro *et al.*, 2018) were performed with the terms “temperature”, “pH” and “hypoxia” as fixed factors and the term “tank” as a random factor, in order to control for pseudo-replication. The tank was found not significant and remove from analyses. Shrimp survival was analyzed by one-way ANOVA with treatments as factors. LSD tests were used to conducted *post-hoc* analyses. Shapiro’s and Bartlett’s tests were also used to test for data normality and homoscedasticity, respectively, as well as visual analyses of residuals. Only survival data were arcsin transformed as suggested by Sokal & Rohlf, (1995) for % data to meet the assumption for normal distribution of data. For design #B, the effect of future environmental scenarios (OW and OA) and hypoxia on the energy content of whole shrimp was tested using t-test, as there was not enough survived shrimp from the combined treatment (OW, OA and hypoxia).

All statistical analyses were performed using the software R 3.5.1 version (R Core Team, 2018).

1.3 RESULTS

1.3.1 Survival

Lower survival rates were observed at elevated temperature, low pH with hypoxia (10AH) compared to other scenarios, all treatments considered, elevated temperature negatively affecting shrimp's survival (Fig 7, Table 2). pH did not significantly affect survival rate (Table 2). Finally, oxygen negatively affected shrimp's survival (Table 3). No significant interaction between temperature, pH and oxygen was observed (Table 3).

Survival rates between 2C (pH 7.75, 2 °C) and 10C (pH 7.75, 10 °C) treatments were not significantly different and they varied between (mean \pm SD) 74.24 ± 7.58 % and 66.38 ± 2.38 %. However, shrimp exposed to elevated temperature and low pH (10A) and hypoxia conditions (2CH and 10AH) exhibited lowest survival rates 55.95 ± 5.95 %, 53.46 ± 1.08 %, 15.79 ± 15.79 % respectively. The survival at 10AH represented significantly lower survival rate than for other treatments.

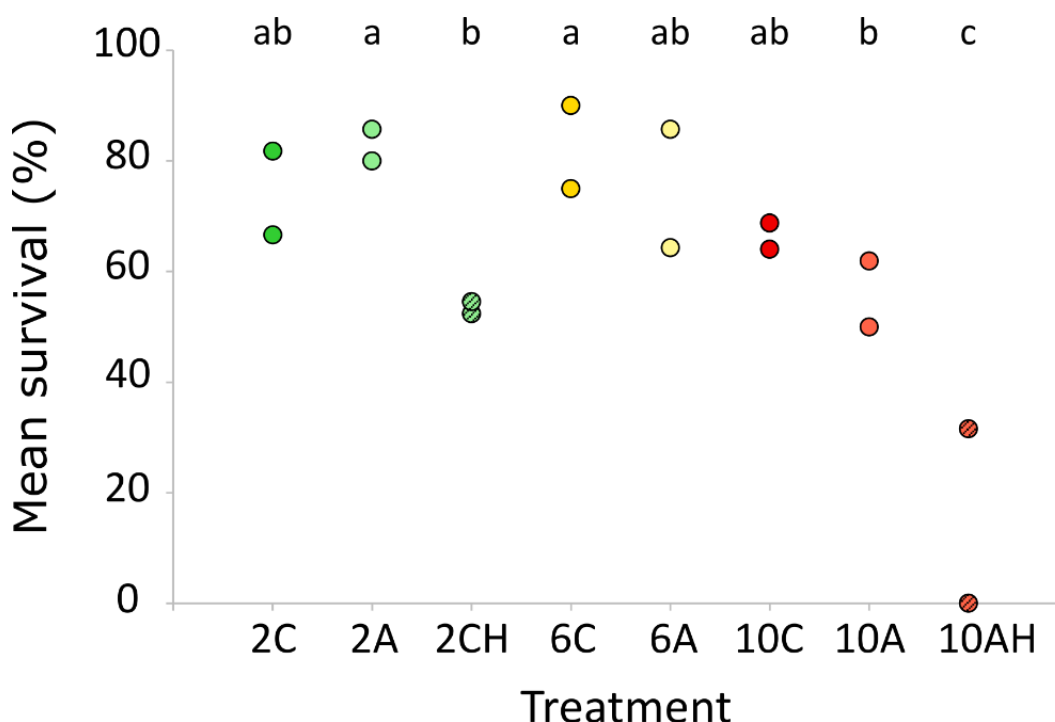


Figure 8. The effect of temperature, pH and DO on survival rate (%) of female Northern shrimp *Pandalus borealis* at the end of 30 d exposure. Points represent mean survival of the two replicate tanks of each treatment. Treatment symbols correspond to 2C : pH 7.75, 2 °C, O₂ sat. 100 % (dark green); 2A : pH 7.4, 2 °C, O₂ sat. 100 % (light green); 2CH : pH 7.75, 2 °C, O₂ sat. 30 % (light striped green); 6C : pH 7.75, 6 °C (dark orange); 6A : pH 7.4, 6 °C (light orange); 10C : pH 7.75, 10 °C, O₂ sat. 100 %

(dark red); 10A : pH 7.4, 10 °C, O₂ sat. 100 % (light red); 10AH : pH 7.4, 10 °C, O₂ sat. 30 % (light striped red). Different letters represent significant differences between groups.

1.3.2 Energetics traits: caloric values, total lipid and protein contents

Mean calorific values of entire female shrimp (n = 70), mean calorific values, total lipids and proteins of shrimp muscle (n = 60), are presented in Table 2, according to design #A and #B (Fig. 8, 9, 10 and 11 respectively).

Calorific value of entire and muscle shrimp varied respectively between 17.59 and 21.39 kJ g⁻¹ dry mass and between 17.46 to 24.24 kJ g⁻¹ dry mass all treatments confounded. Total lipids and proteins content for the muscle varied respectively between 0.0536 and 0.4991 g and 71.70 and 188.45 mg g⁻¹ of total muscle weight considering all treatments. Temperature and pH did not significantly affect mean calorific values of entire and muscle shrimp and total lipid and protein contents (Table 3, Fig. 8A, 9A, 10A, 11A). No interaction between factors was detected (Table 2). Oxygen did not significantly affect any energetics attribute (Table 3, Fig. 8B, 9B, 10B, 11B). The dispersion of the data is particularly wide for the protein content for the 10A conditions and for the caloric values of entire and muscle shrimp in hypoxic conditions (2CH and 10AH), compared to the other treatments.

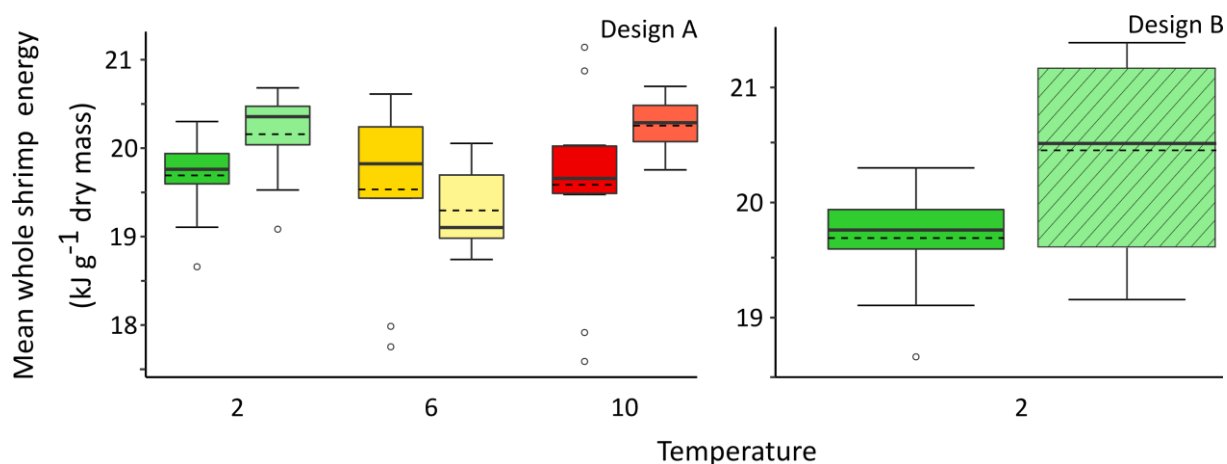


Figure 9. The effect of temperature and pH (design #A) and temperature, pH and DO (design #B) on mean whole shrimp energy content (kJ g⁻¹ dry mass) of female shrimp (*P. borealis*) from the Saint-Lawrence Estuary. Full line represents the median and dotted line represents the mean of the group for each treatment; points represents extreme values of each group. Data for energy content of 10C and 10AH are not presented in design #B because survival was too low in 10AH (extreme temperature, low pH and hypoxia) and there was no available individual to analyze whole shrimp energy content.

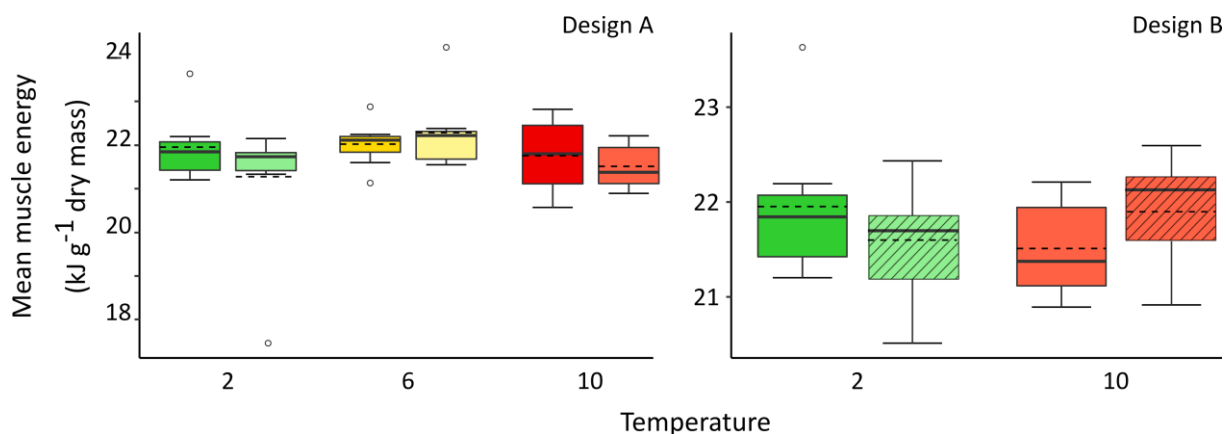


Figure 10. The effect of temperature and pH (design #A) and temperature, pH and DO (design #B) on mean muscle energy content (kJ g^{-1} dry mass) of female shrimp *P. borealis* from the Saint-Lawrence Estuary. Full line represents the median, dotted line represents the mean of the group for each treatment; points represents extreme values of each group.

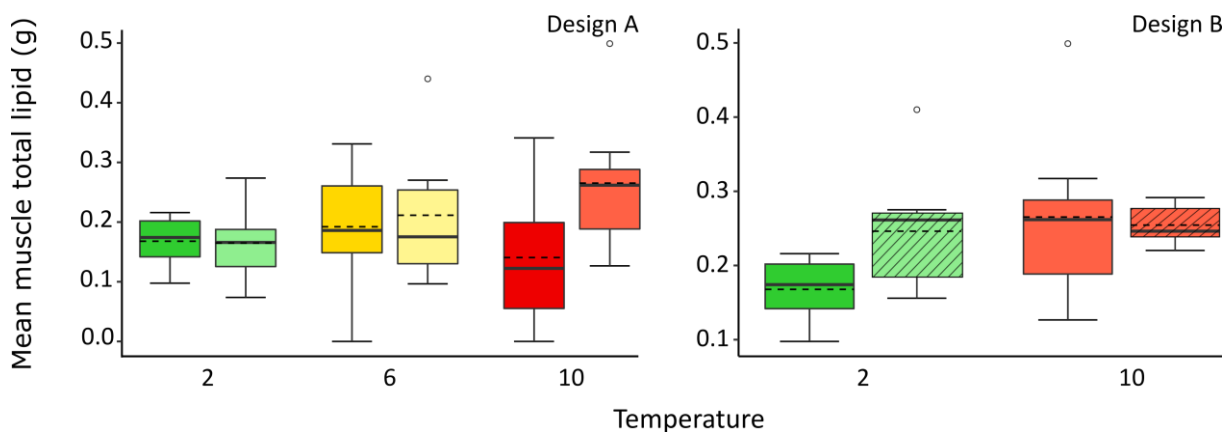


Figure 11. The effect of elevated temperature and low pH (design #A) and elevated temperature, low pH and hypoxia (design #B) on mean muscle total lipids content (g) of female shrimp *P. borealis* from the Saint-Lawrence Estuary. Full line represents the median and dotted line represents the mean of the group for each treatment; points represents extreme values of each group.

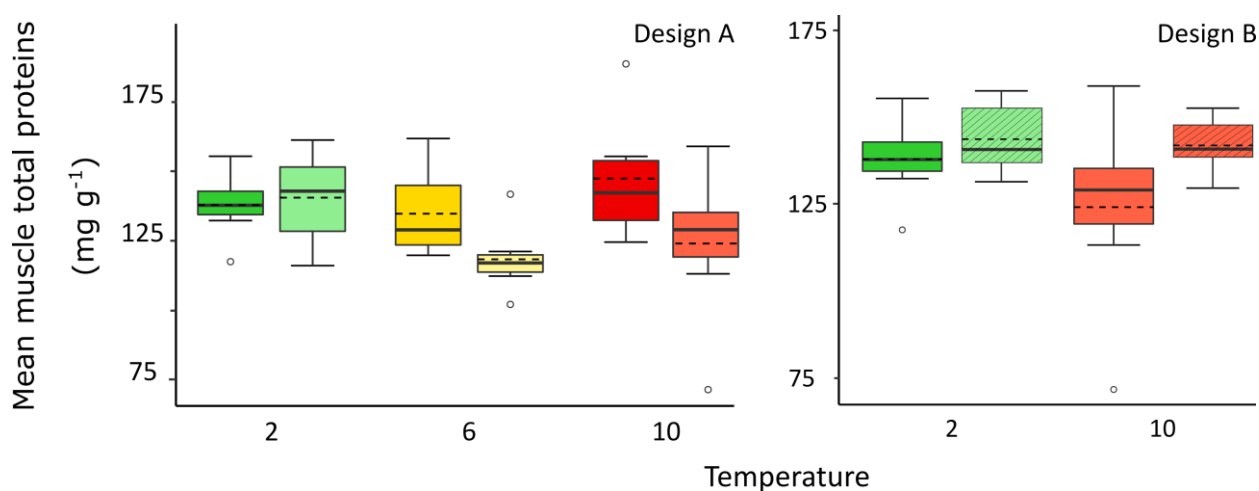


Figure 12. The effect of elevated temperature and low pH (design #A) and elevated temperature, low pH and hypoxia (design #B) on mean muscle total proteins content of female shrimp muscle *P. borealis* from the Saint-Lawrence Estuary. Full line represents the median and dotted line represents the mean of the group for each treatment; points represents extreme values of each group.

1.4 DISCUSSION

Shrimp exposure to the combined conditions of elevated temperature and low pH in normoxia (10A) and hypoxia (10AH) and low temperature, control pH and hypoxia (2CH) dramatically reduces survival but does not significantly affect caloric value and total protein and lipid contents. Thus, whilst our results suggest that the ongoing global change should not alter muscle energy reserves and proximal composition of Northern shrimp, high mortality rates observed in experimental conditions may suggest a reduction in biomass. Our results are here discussed within the context of the importance of the Northern shrimp in future marine ecosystem and the human diet.

1.4.1 Survival

In the present study, elevated temperature and low pH, as simple factors, did not affect survival. Reduced survival in response to OA have been already observed in adult *P. borealis* in a Swedish population (Gullmarsfjord, Sweden) (Dupont *et al.*, 2014). Mortality was 1.6 times higher at pH 7.5 when compared to control pH = 8.0 at 11 °C (Dupont *et al.*, 2014). The differences in survival rates between these studies could be explained by the fact that the Swedish population lives in shallower waters and is seasonally subjected to hypoxia but to annually warmer temperatures (average annual temperature between 3.1 and 15.6 °C) because of inflows from the Norwegian Sea and similar pH conditions, with annual mean pH of 7.71 (Dorey *et al.*, 2013). Differently, the SLE population faces chronic hypoxia and acidification in

bottom waters (Gilbert *et al.*, 2005; Mucci *et al.*, 2011), but nearly constant temperature across seasons (4–6 °C) (Galbraith *et al.*, 2019). Thus, populations potentially show local adaptation or long-term acclimatization to their habitats. The Swedish population seems more tolerant to elevated temperatures but more sensitive to low pH whilst the population from the SLE is more tolerant to low pH and hypoxia but particularly sensitive to elevated temperatures.

Mortality increases by almost 4.7 to 5.2 times when shrimps are exposed to the worst scenario (i.e. combined ocean warming (OW), ocean acidification (OA) and hypoxia) compared to the other scenarios tested. *Pandalus borealis* larvae mortality is 30 % higher under chronic exposure to combined OW and OA (6.5 °C, pH 8.1 *versus* 9.5 °C, pH 7.6) (Arnberg *et al.*, 2018). Altogether these results obtained in experimental conditions show the same trends in abundance reduction already observed, or expected, in different populations of shellfish and demersal fishes in response to ocean global drivers: including OW, OA and OAW (Cooley and Doney, 2009; Kroeker *et al.*, 2013; Fernandes *et al.*, 2017). Adult survivorship is not commonly reported in studies although survival information is particularly relevant to predict future population abundances, biomass and global catch potential. It is therefore essential to systematically report such survival information as it can help to determine ecological and economic consequences of global change drivers on commercial fisheries (Cooley & Doney, 2009; Cheung *et al.*, 2011; Fernandes *et al.*, 2017).

1.4.2 Caloric value

The mean caloric value of the entire body and the isolated muscle of the Northern shrimp from our study (mean 19.85 and 21.79 kJ g⁻¹ dry mass, respectively) are in accordance with mean caloric value of *P. borealis* from the literature: mean 20.81 and 19.70 kJ g⁻¹ dry mass, respectively recalculated from muscle sample in Brillon *et al.* (2005) and whole shrimp in Couturier *et al.* (2013). Caloric density values were similar between muscle and whole shrimp samples. We might think that entire shrimp have a greater caloric density, as the cephalothorax contains the hepatopancreas, which is the site of lipid reserves in decapods (Galois, 1987) and muscle is water-riched, as shown in Coururier *et al.* (2013). However, as the cuticle is probably less energetic, it may lower the mean caloric density of the whole animal.

Caloric value can vary seasonally, especially with food availability (e.g. van de Putte *et al.*, 2006). For instance, planktonic species such as copepods, that encounter greater seasonal changes and potentially winter food scarcity, form great lipid reserves (Donnelly *et al.*, 1994).

However, no change in caloric value was shown in our study, regardless of the global change scenario considered. As in our study, environmental changes do not affect caloric value of benthic species from cold waters (Hondolero *et al.* 2012), as the comparison between actual caloric values of 24 Arctic benthic taxa and those from 1970s (Stoker, 1978), show no differences despite current concern on the survival and energetic status of Arctic organisms within the context of environmental changes in the Arctic. These results could be explained by the fact that benthic crustacean species are considered opportunistic, including *P. borealis*. Thus, species which do not especially form energy reserves may show less to no seasonal variation in terms of energetic value (Båmstedt, 1981), as they have evolved in habitats experiencing less marked seasonal changes (Schaafsma *et al.*, 2018). As the caloric value is a key factor defining an organism's energy status, the lack of change in caloric value suggests that the surviving shrimps, fed ad libitum, are capable of maintaining their total energy, needed to support vital processes such as growth, reproduction and moulting.

1.4.3 Lipid and protein content

The energetic value of an individual is commonly obtained by the determination of caloric value or biochemical composition of tissues. Carbohydrates, proteins and lipids are essential fuel molecules, involved in structural building, homeostasis as well as energy resources, maintaining energy balance of an organism (Jimenez & Kinsey, 2015). Among them, proteins and lipids represent the major components of shrimp muscle and storage in invertebrates (McClintock *et al.*, 2006) and decapods (Raymont *et al.*, 1967). Thus, as there are not the major contributors to energetic value, carbohydrates have not been measured in this study. Total lipid and protein contents of female *P. borealis* muscle from our study (mean 0.23 g and 136.03 mg g⁻¹ respectively) are in accordance with published values for this species, with lipids ranging from 0.1 to 1.4 g and mean protein content of 179.7 ± 45.2 mg g⁻¹ (respectively Hopkins *et al.*, 1993; Pillet *et al.*, 2016). Here, we show that muscle lipid and protein content do not change in response to combined environmental changes. There could have been changes in lipid content in the hepatopancreas, but since we observed no changes in whole shrimp caloric density, we might think that there are few changes in lipid and protein contents in the cephalothorax. The quality of the food was as close as possible to the natural diet, but freezing the food for several months may have degraded certain compounds (i.e. vitamins or fatty acids) that could partly explain trends observed. This said, results may nonetheless suggest that

exposure to combined global drivers seem not change organisms' physiological state or that metabolism was able to meet the energy demand of the organism.

Energetic responses are variable and mostly species-specific. To our knowledge no study has already reported the biochemical composition of crustaceans under combined OW, OA and hypoxia. Among the studies assessing the impact of a single driver, no changes of biochemical composition (i.e. lipid, protein and glycogen) under elevated temperature were observed in the red cherry shrimp *Neocaridina davidi* (Baliña *et al.*, 2018). Protein concentration did not significantly vary in females *P. borealis* muscle and hepatopancreas in response to chronic hypoxia (Pillet *et al.*, 2016). Moreover, as *P. borealis*'s standard metabolic rate (SMR) was shown to remain stable under hypoxic conditions above critical oxygen threshold (Dupont-Prinet *et al.*, 2013; Pillet *et al.*, 2016), we can assume that shrimp are able to keep their global energy *via* maintenance of protein and lipid contents. In fact, under hypoxia, crustaceans first reduce metabolism and then use glycogen reserves as first substrate to produce enough ATP, *via* glycogenolysis, and start accumulating lactate (Holman & Hand, 2009). In order to meet high metabolic demand and to sustain activity, metabolism may eventually switch from aerobic to anaerobic pathways and lipids and proteins would be ultimately used during longer exposure to stressful conditions. However, here hypoxia conditions (30 % sat.) were above critical threshold (Dupont Pinet *et al.*, 2013) and survival shrimp were probably able to eat enough not to solicit muscle reserves in protein and lipid.

Furthermore, as females were not in the reproductive phase, they had lower lipid requirement than if they had been preparing for spawning (Baliña *et al.*, 2018). This could also explain the unchanged lipid composition in the muscle, although it is not the site for lipid storage. Finally, the protein-rich diet provided *ad libitum* during several months certainly allowed them to maintain adequate reserves of protein in the muscle, as already observed by Baliña *et al.* (2018). However, even if global energetic value (i.e. caloric value and lipid and protein contents) is kept stable, changes at cellular level *via* changes in amino acid and lipid class may not be excluded. For instance, Ab Lah (2017) observed no differences in total lipid content in *T. militaris* under OW and OA, but observed significant lower poly-unsaturated fatty acids content under OW conditions. These changes in lipid composition reflect potential changes in metabolic pathways, which could ultimately change energy reserves for reproduction, growth, survival, moulting etc.

1.4.4 Conclusion

High mortality rates observed under combined scenario of OW, OA and hypoxia strongly suggest that population's abundance may be reduced and so would the total shrimp biomass in the future ocean conditions. The high mortality observed in *P. borealis* in response to global changes shows that vital physiological mechanisms are particularly affected, despite the fact that we did not observe significant changes in caloric densities and protein and lipid contents. Reductions in population's biomass have already been observed in different Northwest Atlantic populations (Wieland *et al.*, 2012; Hunter *et al.*, 2018; Bourdages & Marquis, 2019) in response to low recruitment and increased predation and warmer conditions for the EGSL populations. Our results observed in experimental conditions show the same trends already observed for EGSL populations, showing that the SLE population is really sensitive to ongoing global changes. However, surviving shrimp have a tolerant phenotype-genotype, allowing them to keep their energetic value *via* maintenance of caloric value and protein and lipid contents. Despite the unchanged energetic value (i.e. caloric value and lipid and protein contents) of the surviving shrimp, these factors could be responsible for a major change in trophic dynamics as population's biomass is severely reduced and *P. borealis* constitute a forage species in the Estuary and Gulf of Saint-Lawrence (EGSL) ecosystem. Therefore, it becomes paramount to measure energetic value of ecologically important species but it is also essential to consider survival responses in order to better understand and predict potential changes in abundance, predatory-prey interactions, long-term community structure and dynamic changes and ecosystem health within a fishery and ecological context (Cheung *et al.*, 2008).

Table 2. Mean (\pm SD) of survival rates (%) and mean (\pm SE) of energy (kJ g⁻¹ dry mass), protein (mg g⁻¹) and lipid (g) content of the Northern shrimp *Pandalus borealis* exposed to elevated temperature, low pH and hypoxia: in more detail, treatment symbols correspond to 2C: pH 7.75, 2 °C; 2A: pH 7.4, 2 °C; 2CH: pH 7.75, 2 °C, O₂ sat. 30 %; 6C: pH 7.75, 6 °C; 6A: pH 7.4, 6 °C; 10C: pH 7.75, 10 °C; 10A: pH 7.4, 10 °C; 10AH: pH 7.4, 10 °C, O₂ sat. 30 %. Different superscript letters above mean survival values represent significant differences between treatments.

	2C	2A	2CH	6C	6A	10C	10A	10AH
Survival (%)	74.24 \pm 7.58 ^{ab} n = 30	82.86 \pm 2.86 ^a n = 40	53.46 \pm 1.08 ^b n = 50	82.50 \pm 7.50 ^a n = 30	75.00 \pm 10.71 ^{ab} n = 30	66.38 \pm 2.38 ^{ab} n = 40	55.95 \pm 5.95 ^b n = 50	15.79 \pm 15.79 ^c n = 50
Mortality (%)	25.76 \pm 7.58 ^{ab}	17.14 \pm 2.86 ^a	46.54 \pm 1.08 ^b	17.50 \pm 7.50 ^a	25.00 \pm 10.71 ^{ab}	33.62 \pm 2.38 ^{ab}	44.05 \pm 5.95 ^b	84.21 \pm 15.79 ^c
Mean energy content of whole shrimp	19.76 \pm 0.23 n = 10	20.16 \pm 0.23 n = 10	20.36 \pm 0.39 n = 10	19.60 \pm 0.47 n = 10	19.30 \pm 0.22 n = 10	19.59 \pm 0.52 n = 10	20.25 \pm 0.13 n = 10	
Mean energy content of muscle shrimp	21.95 \pm 0.31 n = 7	21.27 \pm 0.43 n = 10	21.60 \pm 0.19 n = 9	22.02 \pm 0.18 n = 8	22.28 \pm 0.35 n = 7	21.76 \pm 0.36 n = 6	21.51 \pm 0.19 n = 8	21.90 \pm 0.29 n = 5
Mean total lipids of muscle shrimp	0.17 \pm 0.02 n = 7	0.16 \pm 0.02 n = 10	0.25 \pm 0.03 n = 9	0.19 \pm 0.04 n = 8	0.21 \pm 0.04 n = 7	0.14 \pm 0.05 n = 6	0.27 \pm 0.04 n = 8	0.25 \pm 0.01 n = 5
Mean total proteins of muscle shrimp	137.88 \pm 4.44 n = 7	140.53 \pm 4.73 n = 10	143.46 \pm 3.09 n = 9	134.77 \pm 5.57 n = 8	118.39 \pm 4.24 n = 7	147.38 \pm 9.44 n = 6	124.09 \pm 10.26 n = 8	141.74 \pm 3.94 n = 5

Table 3. Summary of the statistical results for the investigation of the effect of exposure to elevated temperature and low pH (design #A, see section 1.2.2) and elevated temperature and low pH combined (horizon), and hypoxia (Oxygen) (design #B, see section 1.2.2) on the survival, energy content of whole and muscle shrimp, total lipids and protein in *P. borealis*.

		df	Survival		Energy content of whole shrimp		Energy content of muscle shrimp		Total lipids		Total proteins	
			F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
Design #A	Temperature	1	11.792	0.006	1.339	0.366	1.604	0.280	0.294	0.756	1.559	0.320
	pH	1	0.947	0.354	1.026	0.372	0.560	0.473	0.414	0.542	2.054	0.220
	Temperature * pH	1	1.748	0.223	1.189	0.400	0.982	0.430	0.295	0.754	0.901	0.472
Design #B	Current horizon	1					0.0864	0.771	0.661	0.478	0.224	0.674
	Future horizon	1	20.904	0.001	-2.159	0.978	0.013	0.909	0.763	0.431	0.784	0.434
	Current * Future	1	0.550	0.475			2.320	0.140	0.359	0.593	0.084	0.794

CHAPITRE 2

LES CHANGEMENTS GLOBAUX ONT-ILS UN GOÛT AMER ? EFFETS DU RÉCHAUFFEMENT, DE L'ACIDIFICATION ET DE L'HYPOXIE SUR LES QUALITÉS NUTRITIONNELLE ET ORGANOLEPTIQUE DE LA CREVETTE NORDIQUE *PANDALUS BOREALIS*

Les produits de la mer constituent un élément essentiel de l'alimentation humaine, car ils représentent une excellente source de protéines, de lipides, de vitamines et d'éléments minéraux essentiels. Dans un contexte de changements globaux, les variations environnementales pourraient dépasser les fluctuations naturelles actuelles, pouvant affecter la composition en protéines, lipides, vitamines et minéraux des organismes. Ces changements en termes de composition des tissus sont susceptibles d'ultimement affecter les qualités nutritionnelles et organoleptiques des produits de la mer. À ce jour, très peu d'études ont été consacrées à l'impact de multiples facteurs de changement global sur la physiologie des organismes marins, même s'ils sont simultanément soumis à de multiples facteurs de stress susceptibles d'interagir dans leur environnement. La crevette nordique *Pandalus borealis* est une espèce sténotherme adaptée au froid et sensible au réchauffement. Elle soutient par ailleurs la 3^{ème} pêcherie la plus lucrative à l'Est du Canada. L'étude des réponses physiologiques de cette espèce aux changements environnementaux combinés est particulièrement pertinente pour la population de l'estuaire du Saint-Laurent, car cette dernière est déjà proche de la limite de tolérance de l'espèce à long terme. En effet, les juvéniles et les adultes de cette population sont soumis simultanément au réchauffement, à l'hypoxie et à la diminution du pH. L'objectif principal est de déterminer les effets simples et combinés du réchauffement, de l'acidification et de l'hypoxie sur les qualités nutritionnelles (c.-à-d. contenu en minéraux) et organoleptiques (c.-à-d. le goût, la texture, l'odeur et l'apparence visuelle) de *P. borealis*. Pour ce faire, les crevettes ont été exposées 30 jours à la combinaison de trois températures, deux pH et deux niveaux d'oxygène, représentant les conditions actuelles et futures (d'ici 2100, scénario 8.5 du GIEC) dans l'estuaire du Saint-Laurent. Les résultats ont montré que l'exposition aux trois stressés combinés (réchauffement, acidification et hypoxie) diminue considérablement la survie mais n'affecte pas de manière significative les attributs organoleptiques. De manière générale, les contenus en minéraux étaient plus importants à la température la plus élevée (10 °C). Globalement, nos résultats montrent le maintien des qualités nutritionnelles et organoleptiques de cette espèce dans le contexte des changements globaux. Cependant, la forte mortalité observée dans les scénarios environnementaux futurs pourrait entraîner une diminution de la biomasse des populations de crevettes et ainsi potentiellement impacter l'économie et l'activité des communautés côtières qui dépendent de la pêche et l'industrie de la crevette.

Mots clés : Valeur nutritive, qualité organoleptique, survie, pêcheries, crustacés, mollusques et crustacés, changement global

WILL GLOBAL CHANGES HAVE A BITTER TASTE? EFFECTS OF OCEAN WARMING, ACIDIFICATION AND HYPOXIA ON THE NUTRITIONAL AND SENSORY QUALITY OF THE NORTHERN SHRIMP *PANDALUS BOREALIS*

Mathilde Chemel¹, Denis Chabot², Piero Calosi¹, Ella Guscelli¹, Tanya Hansen² & Fanny Noisette³

¹ Département de biologie, chimie et géographie, Université du Québec Rimouski, Rimouski QC, G5L 3A1, Canada

² Institut Maurice-Lamontagne, Pêches et Océans Canada, Mont-Joli, QC, G5H 3Z4, Canada

³ Institut des sciences de la mer de Rimouski, Université du Québec à Rimouski, Rimouski, QC, G5L 3A1, Canada

2.1 INTRODUCTION

Sea food is a substantial component in human nutrition, providing a good source of proteins, lipids, vitamins and essential mineral elements (Venugopal & Gopakumar, 2017). Between 1961 and 2016, global human consumption of aquatic products has annually increased by 3.2 % and in 2015, about 17 % of animal protein consumed in the world came from sea food (FAO, 2018). In the context of growing world population and increasing consumption of aquatic food, seafood and shellfish will become an increasingly important component of global food security (Tacon & Metian, 2013; FAO, 2018). According to FAO prediction (2018), in 2030 fishery production will reach 201 M tons, which represents an increase of 18 % compared to the 2016 production (FAO, 2018).

However, marine organisms are facing the simultaneous change of a number of environmental parameters, including increasing temperature and decreasing pH and oxygen level to values that are beyond current fluctuations as a consequence of the ongoing global climate change (GCC) (Caldeira & Wickett, 2003; Sabine *et al.*, 2004; Gruber, 2011). Ongoing ocean warming (OW) and ocean acidification (OA) alone or in combination are thought to negatively impact the survival, development and physiology of several marine invertebrates in the future ocean, including shellfish (e.g. Small *et al.*, 2015; Pillet *et al.*,

2016; Arnberg *et al.*, 2018; Dworjanyn & Byrne, 2018). Recent advances in environmental physiology have shown that ocean changes can also alter biochemical properties of sea food, including proximate composition: i.e. protein (Tate *et al.*, 2017), lipid (Anacleto *et al.*, 2014; Ab Lah, 2017; Tate *et al.*, 2017), vitamin and metal ion contents (López *et al.*, 2010). These changes in biochemical properties can affect nutritive value, and possibly, palatability of species supporting important fisheries and coastal communities (Spitz *et al.*, 2010). This being said, to date only few studies showed the impact of environmental changes on organoleptic quality (i.e. sensory quality) of shellfish (Papadopoulos & Finne, 1986; Dupont *et al.*, 2014; Lemasson *et al.*, 2017), and to our knowledge no study have explored the potential impacts of multiple global change factors. Furthermore, when dealing with species of commercial interest for human nutrition, providing an understanding for the effects of climate change on biological responses is no longer sufficient. For a product quality approach it is necessary to characterize the nutritional and organoleptic quality to better understand the fate of marketed products (Hilmi *et al.*, 2013).

Among the commercial shellfish in the North Atlantic, the Northern shrimp *Pandalus borealis* (Krøyer, 1838) represents the third most important exploited species in Canada, after the American lobster *Homarus americanus* (H. Milne-Edwards, 1837) and the snow crab *Chionoecetes opilio* (Fabricius, 1788), and the third most lucrative fishery in Eastern Canada, with total Atlantic landings valued at 315.68 thousand \$ in 2017 (including Nova Scotia, New Brunswick, Québec, Newfoundland) (DFO, 2018a). Shrimp fisheries generate significant economic and social benefits for numerous coastal allochthonous and autochthonous communities (MAPAQ, 2015). However, all shrimp populations exploited in Eastern Canada have been declining at a tremendous rate in recent years (Hunter *et al.*, 2018; Bourdages & Marquis, 2019).

Most of the shrimp populations in Eastern Canada live in deep cold environments (100-350 m depth) with bottom temperatures around 2-3 °C (Orr & Sullivan, 2013; Hardie *et al.*, 2015; Siferd, 2015). These populations may face a 4 °C increase by 2100, bringing them to 6 °C (RCP 8.5, IPCC, 2014). Otherwise, there is no real concern about decreased in dissolved

oxygen for most population in Eastern Canada, as shrimp are quite tolerant to hypoxia (Dupont-Prinet *et al.*, 2013).

In particular, the shrimp population of the St. Lawrence Estuary (SLE) has experienced a great decrease in biomass and abundance in 2017, close to the lowest values observed in the early 1990s, possibly due to warming and hypoxia issues and more recently, an important increase in redfish biomass (DFO, 2018b): the deepwater redfish *Sebastes mentella* (Travin, 1951) and the acadian redfish *Sebastes fasciatus* (D. H. Storer, 1854). This population of *P. borealis* is a good example to study what could happen to shrimps from other stocks, as it is already exposed to warm, hypoxic and acidic waters. Since 2010, SLE deep water (> 150 m) temperature has been increasing (Galbraith *et al.*, 2019). Shrimps from the SLE are already exposed to an average temperature of 5-6 °C, and simultaneously, these organisms commonly encounter low oxygen levels: i.e. hypoxia. For instance, deep (> 175 m) water in the Gulf of St. Lawrence are typically in the range 30-50 % saturation relative to air (% sat. hereafter), and hypoxia is even more severe in the SLE, where dissolved oxygen (DO) is 17–25 % sat. (Gilbert *et al.*, 2005; Galbraith *et al.*, 2019). Finally, hypoxia is mostly responsible for bottom waters acidification in the SLE (Mucci *et al.*, 2011), and bottom water pH is already as low as 7.75 in the most severely hypoxic regions of shrimp habitat. Thus, bottom waters in the SLE could drop to 7.40 at the end of the century, because of the superimposition of ongoing ocean acidification and worsening of hypoxia (Stortini *et al.*, 2017) in coastal waters (RCP 8.5, IPCC, 2014).

Given the importance of applying multifactorial approaches to understand changes in the nutritional and organoleptic quality of marine species of commercial interest, the aim of our study is that to determine the impact of combined OW, OA and hypoxia on the nutritional (i.e. mineral content) and the organoleptic quality (i.e. taste, smell, appearance and texture) of the Northern shrimp *P. borealis*. Based on the current literature of the biological responses of the Northern shrimp (Daoud *et al.*, 2007; Daoud *et al.*, 2010; Arnberg *et al.*, 2013; Dupont-Prinet *et al.*, 2013; Pillet *et al.*, 2016; Arnberg *et al.*, 2018), the combined exposure to future OW and OA scenarios with hypoxia is expected to negatively affect survival, nutritional and organoleptic quality in the Northern shrimp.

2.2 METHODS

2.2.1 Specimen collection, transport and maintenance

Adult females of the Northern shrimp *P. borealis* were collected in the Saint-Lawrence Estuary (SLE) near Rimouski (~ 58°36'N, 68°35'W, Quebec, Canada) in May 2018 using a rigid frame trawl (~ hauls of 16 min at an average speed of 2.5 knots) at depth ~ 120-150 m. Following capture, shrimp were maintained in 750 L tanks supplied with cooled aerated sea water and transported by truck to the Maurice-Lamontagne Institute, Fisheries and Oceans Canada (Mont-Joli, Qc, Canada) < 10 h after collection. During a five weeks acclimation period to laboratory conditions, shrimp were kept in 1700 L rectangular tanks, continuously supplied with natural sea water from the SLE, pumped at 1500 L min⁻¹ in front of the laboratory facilities. During acclimation to laboratory condition, seawater mean environmental parameters were temperature 4.5 °C, salinity 32, DO 100 % sat. relative to air (% sat. hereafter) and pH (total scale (pH_T) not controlled) 7.9.

2.2.2 Experimental design and set up

In order to investigate the effect of combined ocean change drivers in isolation and combination on nutritional and organoleptic quality of shrimp, two experimental designs were combined, as described in Chapter 1. *Experimental design #A* explored the impact of ocean warming (OW) and ocean acidification (OA), in isolation and combined in a full orthogonal experimental design: female shrimp were exposed to three levels of temperature (2, 6 and 10 °C) and two levels of pH (7.75 and 7.4), in normoxia. *Experimental design #B* explored the effect of hypoxia on shrimp nutritional and organoleptic qualities combined to the exposure to current and future scenarios of OW and OA combined (current and future horizons respectively) (see 1.2.2 for details).

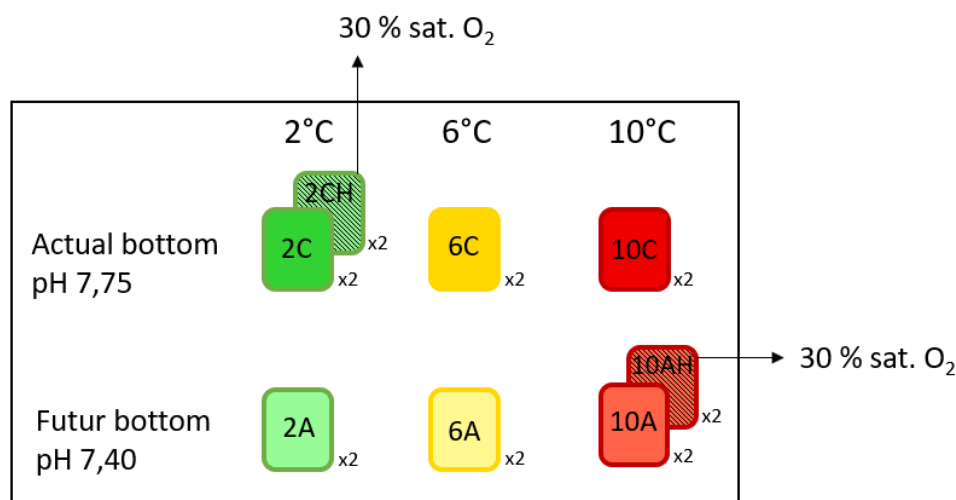


Figure 13. Schematic representation of experimental design exploring the effect of elevated temperature, low pH and hypoxia. Treatment symbols correspond to 2C : pH 7.75, 2 °C (dark green); 2A : pH 7.4, 2 °C (light green); 2CH : pH 7.75, 2 °C, O₂ sat. 30 % (light striped green); 6C : pH 7.75, 6 °C (dark orange); 6A : pH 7.4, 6 °C (light orange); 10C : pH 7.75, 10 °C (dark red); 10A : pH 7.4, 10 °C (light red); 10AH : pH 7.4, 10 °C, O₂ sat. 30 % (light striped red).

Designs #A and #B were combined into a single experiment and realized using the same in one experimental setup (see 1.2.2 for details). A total of eight treatments were tested, as described in Chapter 1 (Fig 13). Each treatment was applied to two experimental replicates as 240 L tanks.

The experimental set up was similar to the one described in Chapter 1. Briefly, it consisted in 16 independent flow-through 240 L experimental tanks (i.e. two *per* treatment), supplied by two 750 L header tanks maintained at 0 and 10 °C by an automatic system with external thermopumps (Gell'Air, Mont-Joli, QC, Canada) and heaters. Temperature, pH and dissolved oxygen (DO) were adjusted for each tank by feedback systems (1/16 DIN Micromega autotune PID Temperature, Omega Engineering inc., Norwalk, CT, USA and 1008 and 1001 modules, IKS Aquastar, Karlsbad, Germany, for oxygen and pH levels, respectively).

Following acclimation, shrimps (n = 1040) were haphazardly transferred to the experimental setup, and they were gradually brought to their experimental conditions (0.15 pH unit day⁻¹, 1.5 °C day⁻¹, ~ 15 % sat. day⁻¹). During the acclimation phase and the actual experiment,

shrimps were kept in the dark and fed *ad libitum* with chopped capelin and shrimp (see chapter 1 for more details).

2.2.3 Monitoring of seawater chemical and physical parameters and characterization of the carbonate chemistry

Temperature, oxygen saturation and pH for each tank were taken every 15 sec by the control systems (IKS Aquastar). In addition, the same parameters, and also salinity, were measured daily to validate and calibrate the control systems, using respectively a thermocouple (HH802U, Omega Ltd, Manchester, UK), an oxygen meter (OXYROB10, Pyrosciences, Aachen, Germany), a conductivity portable meter (Proline Cond3110, WTW, Weilheim, Germany) and a pH meter (914, Metrohm AG, Herisau, Switzerland) calibrated using NBS then TRIS buffers (to convert the pH values to the total scale; Dickson *et al.*, 2007), respectively. DO was further validated with a weekly titration for each tank, using a method modified from Winkler (1988) and described by Jones *et al.* (1992).

As described in Chapter 1, seawater samples (vol. = 500 mL) were collected weekly in the header tanks and all experimental tanks for total alkalinity (TA) and dissolved inorganic carbon (DIC) determination by poisoning water samples with saturated HgCl₂ solution. Total alkalinity was determined by 0.01 N HCl potentiometric titration (Dickson *et al.*, 2007), using an automatic titrator (848 Titrino Plus, Metrohm). DIC determination was conducted by flow injected analyses gas exchange conductivity method, as described by Hall and Aller (1992), using a conductimeter combined to a gas exchange cell (Dionex ICS-1000, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MS, USA).

Other carbonate system parameters (partial pressure of CO₂ ($p\text{CO}_2$), concentrations of bicarbonate ($[\text{HCO}_3^-]$) and carbonate ions ($[\text{CO}_3^{2-}]$) were calculated using measured pH_T , temperature, salinity, TA and DIC values using CO₂SYS software (Lewis & Wallace, 1998), with dissociation constants from Millero (2010). For calcite and aragonite saturation states (Ω_{cal} and Ω_{ara}) calculation, as the constants are not applicable at temperatures below 2 °C, only temperatures ≥ 2 °C were selected for the control pH and cold temperature scenario (2C, n = 49), the low pH and cold temperature scenario (2A, n = 38) and the control pH, cold

temperature and hypoxia scenario (2CH, n = 53). Mean physico-chemical parameters for the duration of the experiment are given in Table 4.

2.2.4 Survival determination and tissue sample preparation

During the 30-d exposure period, survival and molting events were monitored daily, always between 8h30 and 9h00. Dead individuals were removed daily in order to prevent proliferation of bacteria and ammonia accumulation. Survival is presented as the final number of surviving animals, relative to the initial number of animals for the tank. At the end of the exposure period, individuals were carefully and rapidly blotted dry with a tissue paper and weighted using a precision scale (Mf-300, A&D Company, Tokyo, Japan, 0.001 precision). Individuals were kept on ice during transfer between the tank and the table where they were euthanized. Then they were placed in Ziploc bags and frozen at -20 °C to be later used for tissue minerals composition (five indiv. *per* tank, 10 *per* treatment) for the determination of nutritional quality and for organoleptic quality evaluation (21 indiv. *per* tank, 42 indiv. *per* treatment for 2C, 2CH, 10C and 10A).

2.2.2 Tissue mineral and vitamin B₃ composition

To determine nutritional quality of shrimp tissues, mineral composition in bore (B⁺), barium (Ba²⁺), calcium (Ca²⁺), copper (Cu²⁺), iron (Fe²⁺), potassium (K⁺), magnesium (Mg²⁺), manganese (Mn²⁺), strontium (Sr²⁺) and zinc (Zn²⁺) concentrations and vitamin B₃ composition were quantified in shrimp muscle (mmol kg⁻¹ dry mass).

For mineral composition, muscle samples were prepared as described in Menu-Courey *et al.* (2019) using plastic tools to avoid any mineral contamination. Eighty thawed samples were lyophilized (Freeze Dryer, Labconco, Kansas city, MO, USA) 48 h at -40 °C. Dried samples were placed in a desiccator as soon as they were out from the lyophilizer and 250 mg of dried muscle were weighed with a precision scale (225AC, VWR, Radnor, PA, USA; 0.00001 precision) and placed in 15 mL Falcon tube. To digest samples, nitric acid 65-70 % (3 mL) and hydrogen peroxide 25-35 % (1 mL) were added in each tube and mixture was vortexed. Falcon tube were left open 24 h under a fume cupboard in order to allowed the total digestion

Table 4. Mean physico-chemical parameters of the different seawater treatment (mean \pm SD): temperature ($^{\circ}\text{C}$), pH (Total scale), salinity, total alkalinity (TA— $\mu\text{mol kg}^{-1}$), total carbon dioxide (DIC— $\mu\text{mol kg}^{-1}$), carbon dioxide partial pressure ($p\text{CO}_2$ — μatm), bicarbonate concentration (HCO_3^- — $\mu\text{mol kg}^{-1}$), carbonate concentration (CO_3^{2-} — $\mu\text{mol kg}^{-1}$) and Ω_{calcite} and $\Omega_{\text{aragonite}}$.

Treatment	O ₂ (% sat.)	Salinity	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	pH _T	DIC ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	TA ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	$p\text{CO}_2$ (μatm)	[HCO ₃ ⁻] ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	[CO ₃ ²⁻] ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	Ω_{calcite}	$\Omega_{\text{aragonite}}$
2C	99.84 \pm 1.24 ^a	32.96 \pm 0.60 ^a	2.32 \pm 0.78 ^a	7.77 \pm 0.09 ^a	2028.61 \pm 113.91	2065.73 \pm 103.67	726.00 \pm 162.88	1935.67 \pm 110.87	50.77 \pm 10.56	1.24 \pm 0.26	0.78 \pm 0.16
2A	99.77 \pm 1.32 ^a	32.94 \pm 0.63 ^a	2.35 \pm 0.92 ^a	7.43 \pm 0.14 ^b	2104.72 \pm 121.51	2047.19 \pm 103.66	1651.35 \pm 422.24	1983.75 \pm 110.56	24.70 \pm 10.61	0.62 \pm 0.28	0.39 \pm 0.18
2CH	36.10 \pm 15.05 ^b	32.97 \pm 0.65 ^a	2.46 \pm 0.88 ^a	7.75 \pm 0.07 ^a	2034.93 \pm 104.19	2067.15 \pm 102.14	755.02 \pm 131.48	1942.78 \pm 99.63	48.59 \pm 8.15	1.20 \pm 0.20	0.75 \pm 0.13
6C	98.08 \pm 1.85 ^a	32.96 \pm 0.57 ^a	6.01 \pm 0.46 ^b	7.75 \pm 0.08 ^a	1987.88 \pm 110.25	2033.73 \pm 105.98	763.22 \pm 148.67	1894.91 \pm 106.31	54.30 \pm 9.06	1.33 \pm 0.22	0.84 \pm 0.14
6A	97.55 \pm 1.20 ^a	33.07 \pm 0.56 ^a	6.09 \pm 0.52 ^b	7.45 \pm 0.14 ^b	2103.61 \pm 107.67	2067.15 \pm 102.14	1647.38 \pm 425.79	1990.25 \pm 100.57	30.19 \pm 13.40	0.74 \pm 0.33	0.47 \pm 0.21
10C	97.16 \pm 1.56 ^a	33.11 \pm 0.55 ^a	9.68 \pm 0.77 ^c	7.77 \pm 0.10 ^a	1980.28 \pm 102.90	2047.04 \pm 104.51	758.40 \pm 200.68	1881.14 \pm 100.18	65.32 \pm 12.85	1.60 \pm 0.31	1.01 \pm 0.20
10A	98.55 \pm 1.64 ^a	33.04 \pm 0.55 ^a	9.62 \pm 1.09 ^c	7.47 \pm 0.17 ^b	2050.81 \pm 127.08	2034.09 \pm 105.16	1613.99 \pm 547.10	1943.49 \pm 117.72	35.56 \pm 14.71	0.87 \pm 0.36	0.55 \pm 0.23
10AH	37.55 \pm 13.05 ^b	33.18 \pm 0.52 ^a	9.63 \pm 0.97 ^c	7.44 \pm 0.13 ^b	2091.72 \pm 112.33	2065.73 \pm 103.67	1717.67 \pm 403.31	1982.40 \pm 105.20	32.84 \pm 12.06	0.80 \pm 0.30	0.51 \pm 0.19

reaction of the tissue sample before they were placed 2 h in a sonication bath at 45 °C (97044-002, VWR), whilst the Falcon tube cap was open every 15 min in order to degas the solution. Mineral concentrations determination was carried out at the Geolab (Sudbury, ON, Canada).

Mineral concentrations were quantified by inductively coupled plasma optical emission spectrometer (Spectro Acros II ICP-OES, SPECTRO Analytical Instrument, Kleve, Germany) using the custom analytical method on the ICP-AES IAW-200. Digested samples were diluted with water to reduce the total percentage of total dissolved solids of the samples within the instrument's tolerance limits and to make up sufficient solution for analyses. The detection limits are based on the equivalent matrix of the submitted samples and corrected for the additional dilution factor. The custom method was calibrated against matrix matched homemade solutions. All routine quality control materials included with the analyses were composed of a 1 % v/v HNO₃ matrix.

For vitamin B₃ quantification, muscle sample were thawed and 5 g muscle were weighed with a precision scale (225AC, VWR, Radnor, PA, USA; 0.00001 precision) before 20 mL H₂SO₄ 0.5 M buffer were added. Sample were homogenized for 1 min (11045011 Polytron, Kinomatica, Luzern, Switzerland) and then placed in a sonication bath (97044-002, VWR) at 30 °C for 15 min. Sample were then centrifuged for 15 min at 8000 rpm and then filtered using Wathman #4 paper, beforehand rinsed with water, and supernatant solution was collected. Solution was dry evaporated in a 50 mL Falcon tube and final volume was adjusted to 10 mL with deionized water. In order to extract vitamin B₃, an Aromatic Sulfonic Acid (3ml/500mg) Bond Elut-SCX, 500 mg 3 ml Agilent was conditioned with 3 mL methanol and 3 mL phosphate 0.1 M pH 2.1 buffer. 1.5 mL of sample solution was added and eluted. The column was then rinsed with 6 mL phosphate 0.1 M pH 2.1 buffer and remove the filtrate. Again, 6 mL phosphate 0.1 M pH 2.1 buffer was added and the extract containing vitamin B₃ was collected and dry evaporate using a speed vacuum. Volume was adjusted to 1.5 mL with deionized water before the sample was filtered (0.45 µm) and finally injected in the UPCL.

2.2.3 Organoleptic quality evaluation

At the end of the 30-d exposure, 21 shrimp *per* tank (3 shrimp *per* tank *per* panelist) were sampled for organoleptic evaluation. They were carefully rinsed under cold fresh water, rapidly blotted with a tissue paper, placed whole in a pre-identified Ziploc bag and then frozen at -20 °C. To avoid smell contamination, individuals from each treatment were placed in triple Ziploc bag. Organoleptic evaluations were carried out at the Merinov laboratory (Gaspé, QC, Canada), where the shrimp were transported by bus in coolers filled with dry ice. Temperature was constantly monitored with a temperature logger (MicroTemp, Madge Tech, Warner, NH, USA) to confirm that shrimps remained completely frozen during the transport. At Merinov, bags were inspected to detect any damage and stored at -34 °C in a freezer (13-986-149, Thermo Fisher Scientific, Hampton, NS, USA) pending organoleptic assessment. Shrimp were thawed at 0-4 °C in a refrigerator (Frigidaire Professional FPRU19F8RFC, Stockholm, Sweden) 24 h before organoleptic evaluation. Shrimp were first inspected for general appearance and color criteria according to Quality Index Method (QIM) chart for Northern shrimp (QIM Eurofish, 2001). They were then weighed individually using a digital scale (PE360, Mettler-Toledo, Greifensee, Switzerland) and individuals from the same treatment were cooked 1'15" (4-6 g indiv.), 1'45" (7-9 g indiv.) or 2'00 (> 9 g indiv.) in 2 L of unsalted boiling water. They were then scooped, cooled for approximately 1 min in a bowl of icy water, manually peeled and the meat was sealed in a container, refrigerated until the trays were assembled for assessment. The organoleptic evaluation method followed the guidelines of the XP V09-500 AFNOR Normalization standard on hedonic tests (AFNOR, 2000). Cooked shrimps were tempered for 2 h at room temperature before mounting the trays. Three shrimps were placed in the center of a white dish and panelists received only one set (i.e. one treatment) at a time, in a random predefined order. The evaluation consisted for each member of the restricted panel (i.e. three women and three men from the Merinov employees) in scoring the color, smell, texture and taste on a nine-level hedonic evaluation, as well as commenting freely their impression. All assessments took place in booths that globally respected the NF EN ISO 8589 standard for the design of

organoleptic analysis rooms. The light was of daylight type at an average intensity of 780 lux.

The panel could be qualified as an "insider panel", as participants regularly consumed marine products, had already participated in organoleptic evaluation tests and were specially trained in shrimp organoleptic evaluation tests. Panelists were trained during the summer before the organoleptic evaluation, by evaluating Northern shrimp flesh produced in three different ways: 1) with maturation solution pre-cooking, as in the industry 2) without any pre-cooking treatment 3) shrimp from the market (local fishmonger). The training allowed panelists to become familiar with the nine-level form and the vocabulary in organoleptic evaluation for cooked shrimp (QIM Eurofish, 2001).

2.2.4 Statistical analyses

In order to test the effect of global change drivers and their interaction on shrimp vitamin and mineral content for the designs A and B separately, mixed-effect models (nlme RStudio package, Pinheiro *et al.*, 2018) were performed, with the terms "temperature", "pH" and "hypoxia" as fixed factors and the term "tank" as a random factor, in order to control for pseudo-replication. The tank was found not significant and removed from analyses. Shrimp survival was analyzed by one-way ANOVA with treatments as factors. Normality and homoscedasticity assumptions have been verified. LSD tests were used to conduct *post-hoc* analyses when an effect was found significant. Survival data were arcsin transformed as suggested by Sokal & Rohlf, (1995) for % data and mineral data were log transformed to meet normality assumption. All univariate statistical analyses and assumptions checking were performed using the software R 3.5.1 version (R Core Team, 2018).

Permutational Manova (Anderson, 2001) (Vegan {Adonis} RStudio package, Oksanen *et al.*, 2018) was used to test the impact of elevated temperature, low pH, hypoxia on the organoleptic attributes (taste, appearance, texture and smell all together), with panelist as a blocking factor. A principal component analysis (PCA) was then performed in R to obtain a more integrated interpretation of the organoleptic attribute depending on the treatment tested. For that purpose, data were rank transformed and multivariate and univariate normality were

tested respectively by Mardia Skewness and Mardia Kurtosis tests and Shapiro's test. Rank data were used, even though PCA is a very robust analysis (Tabachnick & Fidell, 2006). Correlation between variables have been tested and there was no redundancy. The Kaiser-Guttman rule (Jackson, 1993) and the broken stick method (graphic method) were used to determine that only the first two axes contributed enough to be retained in the analysis.

As the comments of the panelists were a source of relevant information about the organoleptic quality in addition to the hedonic scale, a word co-occurrence analysis was run to seek for any potential pattern in panelist feelings. As several terms could be used to express the same feeling, they were grouped by theme and thus recoded under a new single term. For example, to describe a shrimp characteristic color, several adjectives or words could be employed (orange, pink, shrimp color, nice color etc). However, in the word analysis, they were all recoded under the name "shrimp color". Tropes free software (Pierre Molette and Agnès Landré, 1994) permitted to determine the three most recurrent theme in the comments for each attribute category (color, smell, texture and taste). The recoding work was done for each of the three most used theme. The occurrence of those most recoded recurrent words was then counted by treatment to determine if some terms were more repetitive at some treatments.

2.3 Results

2.3.1 Survival

Mean survival rates for each treatment are presented in Table 5. Lower rates of survival were observed in shrimp exposed to 10 °C compared to those at 2 and 6 °C, the highest elevated temperature significantly negatively affecting shrimps' survival rates (Fig. 13, Table 6). In addition, exposure to low pH also negatively affected shrimps' survival rates at 10 °C (Fig. 13 and Table 6), with better rates in control than low pH conditions for this temperature.

Finally, hypoxia negatively affected survival at 10 °C, with the lowest survival rates measured in the 10AH scenario (Table 5).

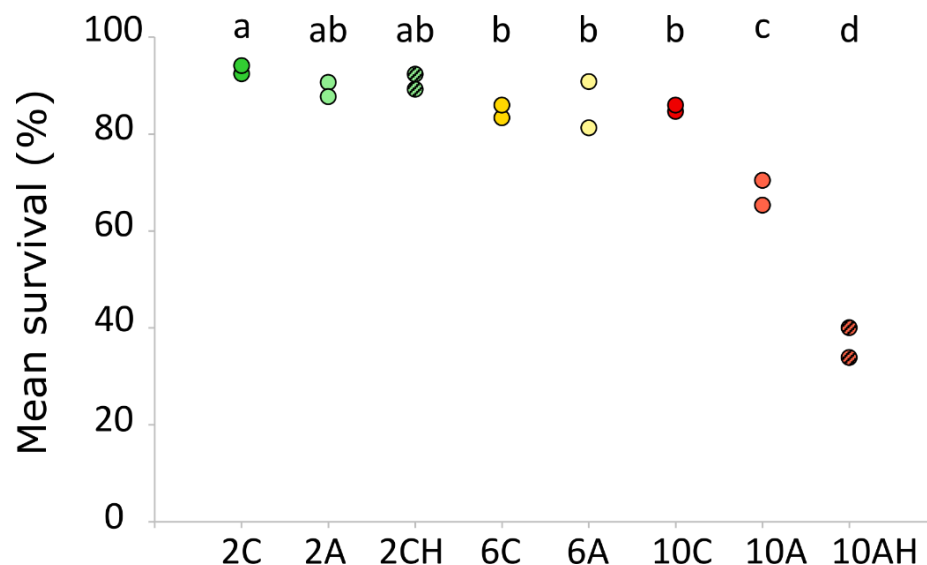


Figure 14. The effect of elevated temperature, low pH and hypoxia on mean survival rate (%) of females of the Northern shrimp *Pandalus borealis* at the end of 30 d exposure. Points represent mean survival of the two replicate tanks of each treatment. Treatment symbols correspond to 2C : pH 7.75, 2 °C (dark green); 2A : pH 7.4, 2 °C (light green); 2CH : pH 7.75, 2 °C, O₂ sat. 30 % (light striped green); 6C : pH 7.75, 6 °C (dark orange); 6A : pH 7.4, 6 °C (light orange); 10C : pH 7.75, 10 °C (dark red); 10A : pH 7.4, 10 °C (light red); 10AH : pH 7.4, 10 °C, O₂ sat. 30 % (light striped red). Different letters at the top of the graph represent significant differences between treatments.

2.3.2 Mineral and vitamin B₃ contents

Mean concentrations of calcium (Ca²⁺), copper (Cu²⁺), iron (Fe²⁺), potassium (K⁺), magnesium (Mg²⁺), manganese (Mn²⁺), strontium (Sr²⁺) and zinc (Zn²⁺) in shrimp muscle (n = 79) are summarized in Table 5 for each combined condition of temperature, pH and oxygen. Contents in bore (B), barium (Ba) and vitamin B₃ are not presented here because concentrations were below the method's detection limits.

For the first design (#A), the interaction between temperature and pH was found to be significant only for [Cu²⁺] (F_{2, 6} = 6.547, p = 0.031, Table 6). Because of the significant interaction, [Cu²⁺] was compared amongst the six treatment levels by post-hoc tests (Table 5). At pH 7.4, [Cu²⁺] was significantly lower at 6 °C when compared to 2 °C (t-value = 3.807,

$p = 0.021$) and $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($t\text{-value} = -4.595$, $p = 0.009$) (Fig. 14). There was no effect of control pH at 2 and $10\text{ }^{\circ}\text{C}$. In addition, there was no effect of temperature at control pH when compared to $2\text{ }^{\circ}\text{C}$. For all other cations, there was no effect of pH, whilst there was an effect of elevated temperature. Most of the cation concentrations were higher at $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ than at the other temperatures. Thus, $[\text{K}^+]$, $[\text{Mg}^{2+}]$ and $[\text{Zn}^{2+}]$ were significantly higher at $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ than at 2 and $6\text{ }^{\circ}\text{C}$, increasing by 12 %, 13 % and 21 % respectively at $10\text{ }^{\circ}\text{C}$. $[\text{Fe}^{2+}]$ increased by 40 % at $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ when compared to $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $[\text{Sr}^{2+}]$ increased by 25 % at $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ when compared to $6\text{ }^{\circ}\text{C}$.

For design B, higher $[\text{K}^+]$, $[\text{Fe}^{2+}]$, $[\text{Mg}^{2+}]$ and $[\text{Zn}^{2+}]$ respectively 12 %, 30 %, 9 % and 10 % were observed in shrimp exposed to future 10A and 10AH conditions (Fig. 15, Table 5) when compared to current conditions. There was no effect of hypoxia on any mineral content (Table 6).

2.3.3 Organoleptic quality

Ranking for each organoleptic attribute (smell, texture, taste and appearance) are presented in Table 5. Trained panel assessment revealed that organoleptic attributes were not significantly affected by temperature (Pseudo- $F_{168,1} = 0.685$, $p = 0.373$), pH (Pseudo- $F_{168,1} = 0.584$, $p = 0.435$) and oxygen (Pseudo- $F_{168,1} = 0.785$, $p = 0.306$), with no differences between replicates (Pseudo- $F_{168,1} = 0.308$, $p = 0.713$) within each tested treatment.

A PCA, presenting all samples for each treatment, is presented in Figure 16. The two selected principal components (PC) explained 81.86 % of the total variance, the first PC explained 52.38 % and the second PC explained 29.48 % of the variance. No clear pattern emerged from Figure 16 with no specific spatial grouping according to the exposure treatment.

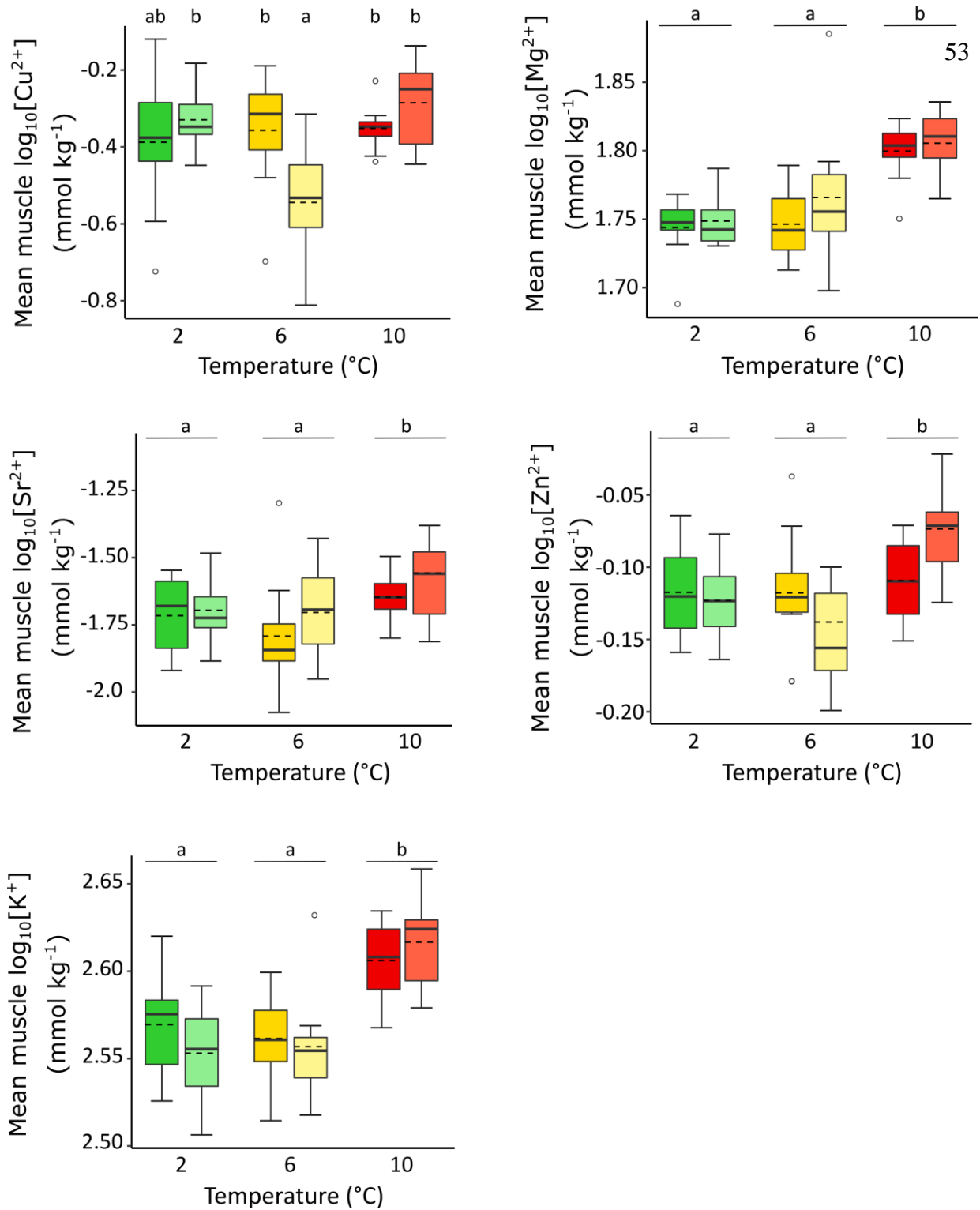


Figure 15. The effect of elevated temperature and low pH on log mean muscle $[\text{K}^{+}]$, $[\text{Fe}^{2+}]$, $[\text{Mg}^{2+}]$, $[\text{Sr}^{2+}]$, $[\text{Zn}^{2+}]$, $[\text{Cu}^{2+}]$, (mmol $\text{kg}^{-1} \pm$ standard error) of female *P. borealis* at the end of 30 d exposure. Full line represents the median, dotted line represents the mean of the group for each treatment, superscripts represent significant differences between groups, points represents extreme values of each group.

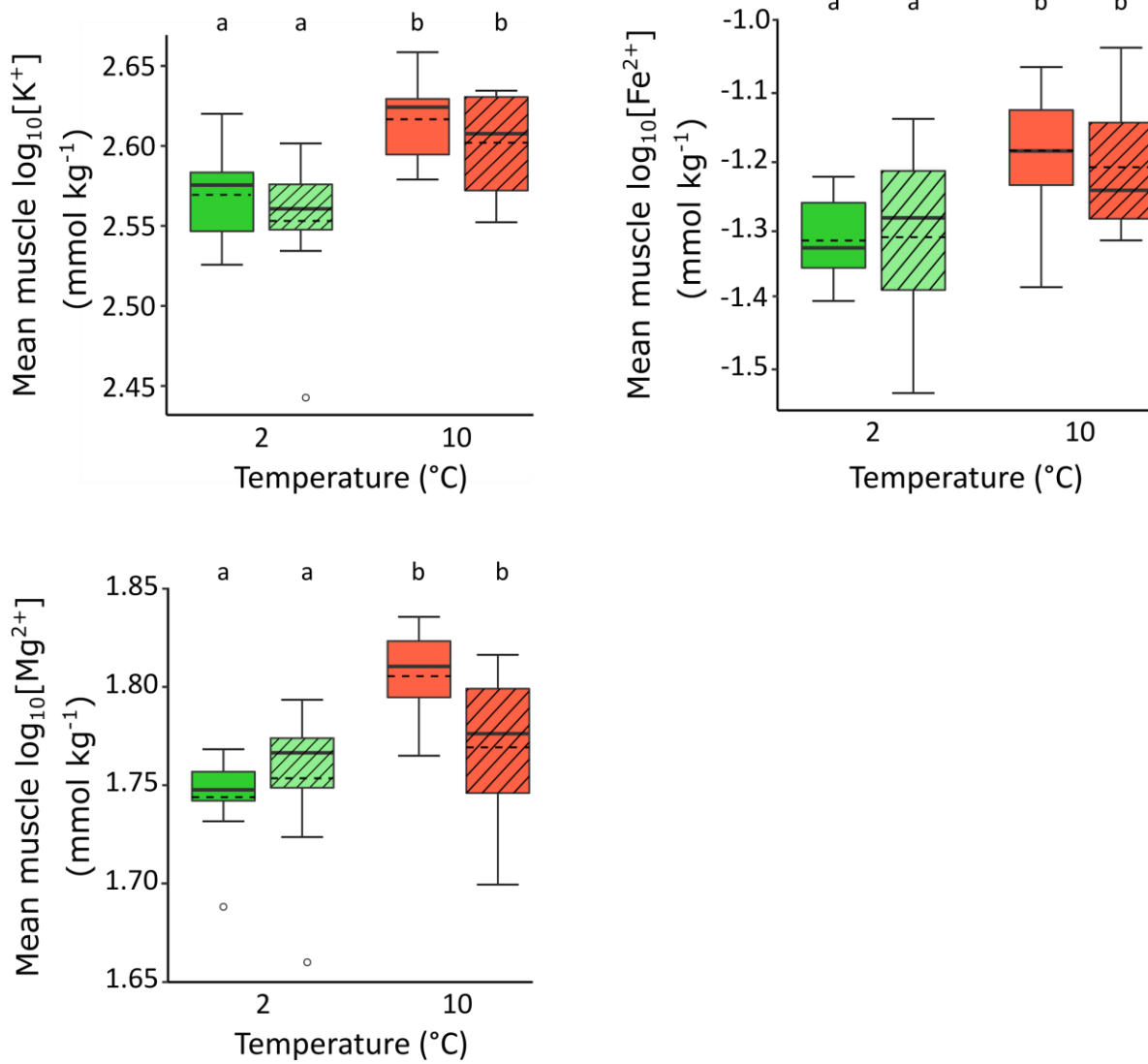


Figure 16. The effect of hypoxia on the combined exposure to elevated temperature and low pH on log mean muscle [K⁺], [Fe²⁺], [Mg²⁺] and (mmol kg⁻¹ ± standard error) of female *P. borealis* at the end of 30 d exposure during summer 2018. Full line represents the median, dotted line represents the mean of the group for each treatment, superscripts represent significant differences between groups, points represents extreme values of each group.

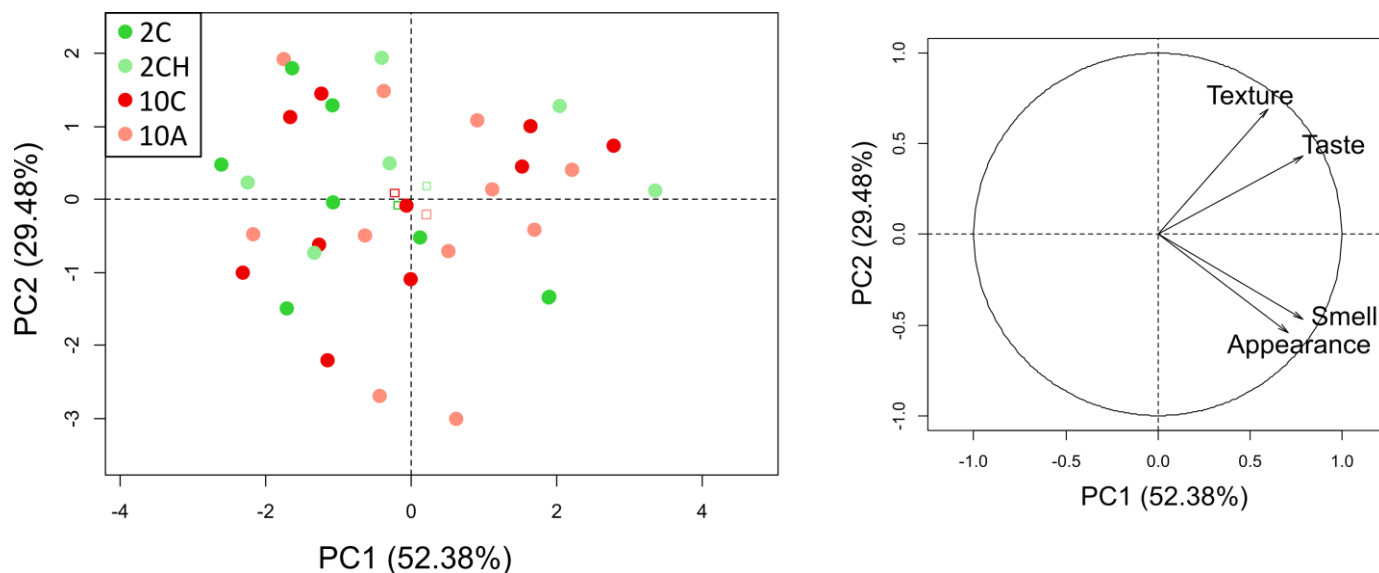


Figure 17. Distribution of the different group of samples on the basis of the first two principal components according to their treatment.

Word occurrence analysis (Fig. 17), revealed no real pattern. The characteristic sweetness of the product has been pointed out for all treatment, but the absence of maturation solution precooking was only noted for the control pH and cold temperature scenario. The color, whether characteristic or uneven, has been annotated equally for all the treatments. The marine fresh smell of shrimp has been reported for all treatments equally and ammoniac smell has been reported twice: for the control pH and cold temperature and low pH and extreme temperature. The texture has been described more times as "pasty" in 10 ° C treatments, while the samples firmness was reported evenly in all samples.

Table 5. Table of occurrences of recoded most occurrent words in panelists comments.

Recoded most occurrent term in comment	Sensory attribute	2C	2CH	10C	10A
Shrimp color	Visual	1	3	2	4
Visible vascularisation	Visual	1	0	1	0
Uneven color	Visual	4	1	3	2
Sweetness	Taste	4	3	4	2
No maturation treatment	Taste	1	0	0	0
Bland taste	Taste	2	4	3	6
Marine smell	Smell	4	4	4	5
Bland smell	Smell	1	1	3	1
Ammoniac smell	Smell	1	0	0	1
Firm	Texture	3	4	4	4
Pasty	Texture	0	0	1	2
Watterlogged	Texture	1	0	1	1

2.4 DISCUSSION

We investigated the effects of elevated temperature, low pH and low oxygen level on the survival, nutritional (i.e. mineral and vitamin contents) and organoleptic quality (i.e. taste, smell, appearance and texture) of the Northern shrimp *P. borealis*. Our results show that survival is strongly negatively affected by exposure to ocean warming (OW) conditions and ocean acidification (OA), and even more so in hypoxia. Mineral contents are globally higher when shrimps are exposed to the highest temperature tested. Finally, exposure to OW, OA and hypoxia does not significantly affect organoleptic attributes of the Northern shrimp. Our results will be discussed within the context of the nutritional and economic importance of the Northern shrimp globally, and more specifically in Eastern Canada, in the future ocean.

2.4.1 Impacts of combined global change drivers on survival

Female adult shrimp mortality increased by 2.5 times when exposed to the combined scenario of elevated temperature, low pH and hypoxia, compared to control conditions. The statistical interaction observed between OAW scenario (i.e. scenario 10A) and elevated temperature, low pH and hypoxia scenario (i.e. 10AH) show, according to Côté *et al.* (2016),

a synergistic interaction which severely reduced survival. Reduced survival in response to global drivers in isolation or combination was already observed in the Northern shrimp (OA alone: Dupont *et al.*, 2014; OA and OW combined: Arnberg *et al.*, 2018). Dupont *et al.* (2014) showed that exposure to OA (pH = 8.0 *versus* pH = 7.5 both treatments at 11 °C, 3 weeks of exposure) increased adult mortality by 1.6 times in the Gullmarsford (Sweden) population, whilst Arnberg *et al.* (2018) showed that chronic exposure to combined OAW (6.5 °C, pH 8.1 *versus* 9.5 °C, pH 7.6, 27-d of exposure) increased larvae mortality by 30 % in the Lysefjorden (Norway) population. The differences between mortality rate of our experiment could be explained by the use of different life stages and environmental scenarios, as shrimp from the SLE were also exposed to different levels of temperature and pH, as well as hypoxia. Indeed, when considering only the exposure to combined OW and OA, mortality increased by 1.3 time, which is similar to what shown by Dupont *et al.* (2014). In addition, survival reported here followed the same pattern as in Chapter 1 of this thesis (except for 2CH scenario), with the lowest survival observed under combined exposure to OW, OA and hypoxia. The difference in survival rate observed for the cold-control-hypoxia scenario (2CH) between the two experiments could be explained by the time shrimp have spent in maintenance tanks before the experiment started. During the first experiment, shrimp have been maintained 5 to 8 months in controlled and normoxia conditions before being transferred in experimental conditions while during the second experiment, shrimp have only spent 5 weeks in maintenance tanks.

Thus, our results confirm the greater sensitivity to elevated temperature and greater tolerance to low pH and hypoxia when not combined with warming, showing a local adaptation of SLE population to its environment.

2.4.2 Impacts of combined global change drivers on mineral content

Minerals have several biological functions, as they are involved in the structure (e.g. maintenance and formation of bones, teeth and soft tissues), physiological functions (e.g. blood clotting, component of respiratory pigments) and cell reaction and regulation (e.g. enzymes cofactors, components of hormones and some vitamins) (McDowell, 2003).

Minerals are essential elements required for human dietary intake because they participate in many biological processes which support and maintain a healthy life (Hirayama *et al.*, 2010; Yattoo *et al.*, 2013). Minerals include macroelements, such as Ca^{2+} , Mg^{2+} and K^+ and microelements, such as Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} and Mn^{2+} (McDowell, 2003).

As the mineral content increases with temperature, a smaller portion than the recommended one (25-30 g portion of shelled shrimp) will provide a sufficient amount of minerals, respecting the daily recommendations intake (i.e. K^+ , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Sr^{2+} and Zn^{2+}) (RDA, 1989; World Health Organization, 1996). In more details, a 30 g portion of shelled shrimp will contribute to 36.5, 16.1, 13.7, 12.7, 11.1, 3.9, 0.78 and 0.42 % of daily [Cu^{2+}], [Mg^{2+}], [Sr^{2+}], [K^+], [Zn^{2+}], [Ca^{2+}], [Fe^{2+}] and [Mn^{2+}] requirement respectively. This said, within the context of future global changes, Northern shrimp will continue to provide a good nutritional value for human consumption, as it represents an excellent source of minerals, vitamins and proteins. Our work showed that globally, shrimp mineral contents are greater at the highest temperature tested (i.e. 10 °C), than in the lower temperature scenarios. Exposure to low pH and low oxygen level does not affect significantly mineral contents.

Mean [Ca^{2+}], [Fe^{2+}], [Mn^{2+}] and [Zn^{2+}] reported in our study were comparable to those found in the broader literature on the mineral contents of other decapod shrimp species (Balkas *et al.*, 1982; Pourang & Amini, 2001; Adeyeye & Adubiario, 2004; Cerezo Valverde *et al.*, 2015). However, mean [Cu^{2+}] and [Mg^{2+}] appear to be slightly higher in our study, with concentrations 2.5 times higher than those found in other shrimp species (Adeyeye & Adubiario, 2004; Oksuz *et al.*, 2009, respectively), and [K^+] is 4 times higher in our study when compared to the concentration reported for the deep-water rose shrimp *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) muscle found by Oksuz *et al.* (2009).

2.4.3 Impacts of combined global change drivers on organoleptic quality of shrimps

Pandalus borealis organoleptic attributes do not change according to a panel of trained testers under future predicted global change scenarios of OW, OA and low oxygen levels. Furthermore, word occurrence analysis of panelist comments reveals that the comments for

shrimp exposed to the combined OW, OA and hypoxia scenario were as good as those for shrimp exposed to the other scenarios tested including those kept under control conditions. Our results differ from those of Dupont *et al.* (2014), who showed a negative effect of low pH on organoleptic quality (e.g. taste and appearance) of *P. borealis*. The discrepancy between these two studies may be related to differences in the experimental design and tested variables. First, in our study, shrimp were frozen and sent for organoleptic assessment, while in Dupont *et al.* (2014) shrimp were immediately prepared after the shorter (three weeks instead of four in the present study) exposure period. Furthermore, preparation of the shrimp in Dupont *et al.* (2014) differed, cooking time was 3 min in salted water in Dupont *et al.* (2014) compared with 1'15 and 2'00 min according to shrimp mass, in our study. Sarower *et al.* (2012) showed that cooking time, and the use of salt, can increase nitrogen compounds, contributing to the intensification of differences in organoleptic attributes. Finally, diet provided differed between the two experiment. In Dupont *et al.* (2014), shrimp were fed *ad libitum* on chopped herring *Clupea harengus*, blue mussel *Mytilus edulis*, artemia *Artemia nauplii*, and Marine Flake (New Era, Thorne, UK) while they were fed *ad libitum* on frozen and finely chopped capelin and shrimp in this study, the quality of the food being similar to their natural diet. As taste is strongly influenced by food consumed by the organism, these differences in diet provided could explain the different results obtained in our study. Based on Dupont *et al.* (2014) results, we would have expected an even stronger degradation in organoleptic properties of shrimp because of our longer exposure to warm, acidic and hypoxic conditions, but we did not. This said, shrimp used in Dupont *et al.* (2014) and our experiment come from two geographically distant, genetically separated populations (Jorde *et al.*, 2015): i.e. Southern Sweden *versus* SLE. Sensitivity to environmental changes depend greatly on population's extant level of adaptation and irreversible acclimatization to its environment, as well as its ability to put in place phenotypic plastic responses (Somero, 2010). These two populations surely present genetic diversification that could explain different biochemical baselines, causing the observed differential responses. Likewise, two populations likely present contrasted responses to global change scenarios, more probably if they face different environmental conditions in their habitat (Calosi *et al.*, 2017; Lardies *et*

al., 2010), like these two shrimp populations. As presented in Chapter 1 of this thesis, the two populations face different environmental conditions as the Swedish population is subjected only to seasonal hypoxia and annual warmer temperature but similar pH conditions than the SLE population (Dorey *et al.*, 2013) while the SLE population undergoes chronic hypoxia and acidification in bottom water (Gilbert *et al.*, 2005; Mucci *et al.*, 2011) and lower summer maximum temperature, as well as more stable temperature (Galbraith *et al.*, 2019). Thus, local adaptation or at least long-term irreversible acclimatization to their different habitat conditions could distinguish these two populations and this could be reflected in the outcome of the two experiments, as the Swedish population seem more tolerant to elevated temperature, while the SLE population is more tolerant to low pH but particularly sensitive to elevated temperature and the combination of the three factors.

Lipids and free amino acids are known to greatly influence shellfish taste and aroma (Cochet *et al.*, 2015), while proteins are involved in texture of the flesh (Brown *et al.*, 2008). In Chapter 1, we showed that there was no difference in proteins and lipids content under future environmental conditions, which could explain why no differences in organoleptic attributes are detected. Finally, the sweetness and marine taste of shrimp was recurrent in panelist's comments, which seems less characteristic of marketed shrimp in Quebec. This difference is explained by the post-experiment treatment of shrimp (MAPAQ, 2014), which differs from the regular commercial processing of shrimp. The extreme freshness of the product consumed by the panelists allowed us to maximize the chance to detect differences between scenarios, which might not have been the case if the shrimp had been through a process of maturation, since maturation alters natural shrimp taste.

2.4.4 Conclusion

Organoleptic quality of *Pandalus borealis* did not change according to a panel of trained testers under future predicted global change scenarios of OW, OA and low oxygen levels. Globally, shrimp mineral contents are greater at the highest temperature tested (i.e. 10 °C) and exposure to low pH and low oxygen level does not affect significantly mineral contents.

However, given the trend in increased mortality observed for mature females under predicted future environmental scenarios, further negative repercussions for recruitment and biomass reduction, particularly in the Estuary, where warming will be accompanied by worsening of hypoxia and acidification, are expected. This reduction in shrimp stocks caused by environmental anomaly, already observed in the Gulf of Maine (Hunter *et al.*, 2018), West Greenland (Burmeister *et al.*, 2014), Barents Sea (ICES, 2006), could have potential economic and social implications for coastal communities relying on this fishery. This said, local adaptation of the SLE population to its environment through long-term irreversible or genetic acclimatization or adaptation seems to mediate biological responses in terms of physiological buffering. Thus, future nutritional value and organoleptic quality, i.e. the quality of this product, should remain unchanged within the context of ongoing ocean changes. Surviving shrimp will still constitute a great source of proteins and lipids (see Chapter 1) as well as minerals (see Chapter 2) for human consumption, as long as the Northern shrimp fishery remain viable in the Northern hemisphere.

Table 6. Mean (\pm SE) of mineral content of muscle shrimp and organoleptic attribute rating and mean (\pm SD) of survival for the Northern shrimp *Pandalus borealis* in relation to elevated temperature, low pH and hypoxia. Treatment symbols correspond to 2C : pH 7.75, 2 °C; 2A : pH 7.4, 2 °C; 2CH : pH 7.75, 2 °C, O₂ sat. 30 %; 6C : pH 7.75, 6 °C; 6A : pH 7.4, 6 °C; 10C : pH 7.75, 10 °C; 10A : pH 7.4, 10 °C; 10AH : pH 7.4, 10 °C, O₂ sat. 30 %. Different letters above mean survival values represent significant differences between treatments. Little letters and big letters above mean mineral content values represent significant differences between treatments in design #A and #B respectively. Organoleptic attributes were scored on a hedonic scale from 1 to 9, with 9 being the highest score.

	<i>n per treatment</i>	2C	2A	2CH	6C	6A	10C	10A	10AH
Survival (%)	130	93.27 \pm 1.20 ^a	89.16 \pm 2.07 ^{ab}	90.77 \pm 2.18 ^{ab}	84.62 \pm 1.83 ^b	86.01 \pm 6.73 ^b	85.28 \pm 0.93 ^b	67.85 \pm 3.64 ^c	36.92 \pm 4.35 ^d
Mortality (%)		6.73 \pm 1.20 ^a	10.84 \pm 2.07 ^{ab}	9.23 \pm 2.18 ^{ab}	15.38 \pm 1.83 ^b	13.99 \pm 6.73 ^b	14.72 \pm 0.93 ^b	32.15 \pm 3.64 ^c	63.08 \pm 4.35 ^d
[Ca ²⁺]	10	32.41 \pm 2.17 ^{ab}	31.26 \pm 1.45 ^{ab}	30.71 \pm 1.68	28.91 \pm 2.62	30.12 \pm 1.84 ^b	33.11 \pm 1.24 ^b	40.80 \pm 5.24 ^a	33.91 \pm 3.08 ^a
[Cu ²⁺]	10	0.44 \pm 0.05 ^a	0.49 \pm 0.03 ^a	0.40 \pm 0.02	0.46 \pm 0.04 ^b	0.30 \pm 0.03 ^b	0.45 \pm 0.02 ^a	0.53 \pm 0.04 ^a	0.39 \pm 0.03
[Fe ²⁺]	10	0.049 \pm 0.002 ^A	0.050 \pm 0.003	0.052 \pm 0.004 ^A	0.064 \pm 0.012	0.047 \pm 0.003	0.074 \pm 0.018	0.067 \pm 0.004 ^B	0.063 \pm 0.005 ^B
[Mg ²⁺]	10	55.52 \pm 0.86 ^{aA}	56.11 \pm 0.77 ^a	57.17 \pm 1.43 ^A	55.87 \pm 1.08 ^a	58.70 \pm 2.33 ^a	63.13 \pm 0.96 ^b	63.98 \pm 1.08 ^{bB}	59.01 \pm 1.79 ^B
[Mn ²⁺]	10	0.0083 \pm 0.0005	0.0085 \pm 0.0005	0.0095 \pm 0.0005	0.0092 \pm 0.0009	0.0084 \pm 0.0005	0.0097 \pm 0.0006	0.0093 \pm 0.0004	0.0088 \pm 0.0009
[Sr ²⁺]	10	0.15 \pm 0.01 ^a	0.15 \pm 0.01 ^a	0.14 \pm 0.01	0.14 \pm 0.02 ^a	0.15 \pm 0.01 ^a	0.15 \pm 0.01 ^b	0.22 \pm 0.04 ^b	0.16 \pm 0.02
[Zn ²⁺]	10	0.77 \pm 0.02 ^a	0.75 \pm 0.01 ^a	0.75 \pm 0.03	0.77 \pm 0.02 ^a	0.73 \pm 0.03 ^a	0.78 \pm 0.02 ^b	0.85 \pm 0.02 ^b	0.74 \pm 0.02
[K ⁺]	10	371.81 \pm 7.96 ^{aA}	357.91 \pm 6.62 ^a	361.61 \pm 10.32 ^A	364.85 \pm 6.72 ^a	361.26 \pm 8.43 ^a	404.29 \pm 6.60 ^b	414.30 \pm 7.61 ^{bB}	401.02 \pm 10.01 ^B
Odor rating	42	7,58 \pm 0,42		7,67 \pm 0,29			7,50 \pm 0,51		7,67 \pm 0,40
Texture rating	42	7,75 \pm 0,27		7,92 \pm 0,24			7,42 \pm 0,55		7,33 \pm 0,54
Taste rating	42	6,33 \pm 0,65		7,17 \pm 0,59			6,83 \pm 0,77		6,33 \pm 0,54
Appearance rating	42	7.33 \pm 0.73		7.67 \pm 0.41			7.0 \pm 0.61		7.58 \pm 0.70

Table 6. Summary of statistical results for the investigation of the effect of elevated temperature and low pH (design #A, see section 2.2.2) and elevated temperature and low pH with hypoxia (design #B, see section 2.2.2) on survival and mineral content in *P. borealis*.

	df	Survival		Ca		Cu		Fe		Mg		Mn		Sr		Zn		K		
		F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	
Design #A	Temperature	1	89.212	< 0.001	3.782	0.060	5.770	0.040	4.363	0.068	20.870	0.002	2.000	0.216	5.277	0.048	6.793	0.029	24.600	0.001
	pH	1	19.481	< 0.001	0.340	0.573	0.413	0.544	0.603	0.467	1.730	0.237	0.300	0.601	2.436	0.170	0.684	0.440	0.300	0.631
	Temperature*pH	2	2.417	0.151	0.137	0.873	6.547	0.031	1.164	0.374	0.390	0.696	0.330	0.731	0.250	0.787	0.256	0.782	1.300	0.346
Design #B	Current horizon	1			1.840	0.246	1.569	0.279	13.839	0.021	9.810	0.035	0.006	0.941	4.770	0.094	3.710	0.126	20.340	0.011
	Future horizon	1	32.722	< 0.001	0.636	0.470	3.746	0.125	0.087	0.783	0.980	0.379	0.207	0.673	1.272	0.323	2.784	0.171	2.070	0.223
	Current*Future	1	12.450	0.006	0.046	0.841	2.074	0.223	0.213	0.668	3.160	0.150	2.769	0.1714	2.294	0.204	6.387	0.065	0.010	0.941

CONCLUSION GÉNÉRALE

Résistance physiologique des crevettes survivantes

Cette étude combinant plusieurs stressseurs associés au changements globaux fournit de nouveaux résultats quant à la valeur énergétique et les qualités nutritionnelle et organoleptique de la crevette nordique soumise au réchauffement, à la diminution du pH et à l'hypoxie es océans. L'exposition combinée à ces stressseurs a sévèrement impacté la survie de la crevette nordique de manière récurrente au cours des deux expériences menées dans ce projet (Chapitres 1 et 2), montrant que les trois facteurs combinés exercent une interaction synergique négative sur la survie des individus (Côté *et al.*, 2016). En effet, le modèle nul $\Sigma[(2C-2A) + (2C-2CH) + (2C-10C)]$ s'illustre par un pourcentage de mortalité de 20.02 pour l'expérience 1 et 14.60 pour l'expérience 2 en comparaison pour les modèles d'interaction (2C-10AH) qui s'illustrent par des pourcentages de mortalité de 58.45 et 56.35 pour les expériences 1 et 2 respectivement, confirmant un effet synergique négatif sur la survie des crevettes en conditions de stressseurs combinés.

La forte mortalité des femelles au sein de la population de crevettes du SLE pourrait affecter la dynamique de population et entraîner une diminution de la biomasse. Par ailleurs, la faible survie de cette population pourrait être un mécanisme écologique indicateur de la trajectoire future des autres populations d'Amérique du Nord, qui ne sont pas encore exposées à des températures aussi élevées. Dans un futur proche, ces changements dans la structure et dynamique de populations auraient d'importantes conséquences écologiques, dans la mesure où ils pourraient affecter le recrutement et les interactions trophiques entre les proies et les prédateurs et à long terme la structure des communautés.

Malgré l'impact sur la survie, l'exposition combinée au réchauffement, à un bas pH et à l'hypoxie n'a pas influencé la valeur calorique de la crevette entière et du muscle, ni les contenus en protéines et en lipides du muscle (Chapitre 1). Dans le Chapitre 2, il a été démontré que la teneur en minéraux est globalement plus élevée lorsque les crevettes sont exposées à une température de 10 °C : température actuelle du fond de l'ESL + 4 °C, prédiction générale de l'augmentation de température dans le cadre du réchauffement global

(RCP 8.5, IPCC 2014). En revanche, l'exposition combinée aux trois facteurs de stress n'a pas eu d'effet significatif sur les attributs organoleptiques, indiquant que la qualité organoleptique de la crevette nordique resterait la même quel que soit le scénario environnemental. Donc, une crevette possédant le phénotype-génotype « tolérant » (i.e. capable de survivre), survivra aux conditions environnementales futures (OW, OA et hypoxie), possèdera sensiblement la même valeur énergétique et présentera les mêmes qualités nutritionnelle et organoleptique, avec seulement quelques différences des contenus en minéraux à 10 °C. Ces résultats suggèrent qu'à des températures allant jusqu'à 10 °C, accompagnées d'une baisse de pH jusqu'à 7.4, cette espèce est capable de consommer suffisamment de nourriture, si celle-ci est disponible, pour maintenir les mêmes réserves énergétiques, et ce même si l'oxygène dissous n'est que de 30 % de saturation. En effet, contrairement au milieu naturel, ici la nourriture était facile à obtenir et en quantité illimitée, et les crevettes n'avaient pas à dépenser de l'énergie pour éviter des prédateurs. Il se pourrait que la situation soit plus difficile à 10 °C dans le milieu naturel et que la diète naturelle des crevette engendre des réponses différentes.

Enfin, il faut tout de même noter que si aucun changement n'a été observé pour les variables étudiées, il est bien connu que la température exerce un contrôle direct sur le taux métabolique (Fry, 1971), et que chez *P. borealis* le taux métabolique augmente lorsque les individus (juvéniles, mâles et femelles) sont exposés à des température élevées (Daoud *et al.*, 2007). Ainsi, la physiologie de ces animaux ne peut être considérée identique à tous les traitements testés, même si aucune différence en termes de valeur énergétique et notamment en termes de contenu calorique n'a pu être observée chez les survivantes. D'ailleurs, les changements de contenus en minéraux observés au Chapitre 2 peuvent être des indicateurs de modifications de l'homéostasie de l'organisme, c'est-à-dire en l'occurrence de la régulation osmo-ionique et l'équilibre acido-base, pouvant avoir des répercussions négatives à long terme sur le métabolisme de l'organisme.

Globalement, nos résultats ont montré le maintien de la valeur énergétique et des qualités nutritionnelle et organoleptique de cette espèce dans le contexte des changements globaux (Figure 18).

Pertinence d'intégrer des données physiologiques dans les modèles d'estimation d'impacts écologiques et socio-économiques des changements globaux

Les espèces fourragères, comme la crevette nordique, sont des espèces écologiquement importantes car elles constituent une source de nourriture essentielle pour de nombreuses espèces, dont certaines à fort intérêt commercial qui contribuent au dynamisme des communautés côtières vivant de ces pêcheries (e.g. Parsons, 2005).

		n per Trait.	2C	2A	2CH	6C	6A	10C	10A	10AH
Survie	Survie des crevettes à la fin des 30 jours d'exposition	Entre 7 et 125	-	-	↓ ou -	-	-	↓	↓	↓
	Énergie totale de la crevette entière	10	-	-	-	-	-	-	-	-
Réponses énergétiques	Énergie totale de l'abdomen de la crevette	5 à 10	-	-	-	-	-	-	-	-
	Lipides totaux	5 à 10	-	-	-	-	-	-	-	-
	Protéines totales	5 à 10	-	-	-	-	-	-	-	-
	Contenu en cuivre	10	-	-	-	-	↓	-	-	-
Qualité nutritionnelle	Contenu en fer	10	-	-	-	-	-	-	↑	-
	Contenu en magnésium	10	-	-	-	-	-	↑	↑	↑
	Contenu en manganèse	10	-	-	-	-	-	-	-	-
	Contenu en calcium	10	-	-	-	-	-	-	-	-
	Contenu en strontium	10	-	-	-	-	-	-	↑	-
	Contenu en zinc	10	-	-	-	-	-	-	↑	-
	Contenu en potassium	10	-	-	-	-	-	↑	↑	↑
	Goût	42	-	-	-	-	-	-	-	-
Qualité sensorielle	Texture	42	-	-	-	-	-	-	-	-
	Odeur	42	-	-	-	-	-	-	-	-
	Aspect visuel	42	-	-	-	-	-	-	-	-

Figure 18. Figure récapitulative des résultats de l'étude, présentant les réponses en termes de valeur énergétique et qualités nutritionnelle et organoleptique de la crevette nordique, exposée à plusieurs scénarios de changements globaux.

La détermination de leur valeur énergétique et de leur qualité nutritionnelle sont donc des outils essentiels à la compréhension du rôle écologique tenu par ces espèces et des flux d'énergie qui transitent au sein de l'écosystème (Leaf & Oshima, 2019). Dans l'EGSL, le

retour de certains prédateurs, comme le sébaste et le flétan atlantique, sont en partie responsables de la diminution marquée des stocks de crevette nordique (Bourdages & Marquis, 2018). Le changement de structure de population et la baisse de la biomasse a commencé dès 2003-2004 notamment du fait d'une baisse marquée du recrutement et s'est poursuivi plus fortement avec le retour du sébaste il y a quelques années et le réchauffement marqué de l'ESL. La diminution de la biomasse totale des stocks de crevettes aurait des répercussions très négatives sur la viabilité et la rentabilité de la pêcherie qu'elle supporte. Les retombées économiques positives actuellement substantielles pour les communautés côtières qui dépendent de cette activité pourraient diminuer, affectant par exemple les communautés autochtones qui ont commencé à exploiter cette ressource depuis seulement quelques décennies. Les informations physiologiques reportées dans ce mémoire, par exemples les données de survie, sont ainsi essentielles à intégrer dans les modèles de réseaux trophiques (comme les modèles DEB) et les modèles socio-économiques car ils pourraient permettre de développer des stratégies adaptatives de gestion des stocks à long terme.

Limites et portées de l'étude

La réduction importante de la survie observée lors de nos expériences en captivité est une tendance déjà observée dans plusieurs populations de l'Atlantique Nord, notamment au Groënland (Wieland *et al.*, 2012), dans le Maine (Hunter *et al.*, 2018) et dans l'EGSL (Bourdages & Marquis, 2019). Hormis la population du Groënland, toutes les autres populations citées se trouvent proches de la limite sud de l'aire de répartition de la crevette nordique et ces populations subissent déjà un important réchauffement des eaux. Les températures rencontrées dans leur habitat sont donc déjà potentiellement proches de leur limite de tolérance thermique. En l'occurrence, une population peut se retrouver en difficulté face au réchauffement si la température du fond devient intolérable pour la phase juvénile/adulte, ou si la température de surface devient intolérable pour la phase larvaire. Dès lors, il est essentiel de considérer plusieurs stades de vie d'une même espèce étant donné que la plupart des espèces d'invertébrés marins possèdent des cycles de vie complexe : i.e. plusieurs stades larvaires et juvéniles de forme distinctes avant la métamorphose adulte

(Jablonski & Lutz, 1983). La réponse physiologique des différents stades de vie peut être radicalement différente du fait qu'ils sont associés à des milieux très distincts durant leur développement : stade larvaire pélagique vs stades juvéniles et adulte benthiques. Ainsi, les différences de températures dans plusieurs habitats de la crevette pourraient devenir un défi pour certains stades de vie. Nos résultats démontrent que si les températures au fond deviennent supérieures à 6 °C, nous observerons des effets délétères sur la survie des adultes à 10 °C.

L'étude de la valeur énergétique comprenait la détermination du contenu total en protéines et lipides, qui renseigne en partie sur la quantité d'énergie dont l'organisme dispose pour sa croissance, sa reproduction etc. Comme expliqué ci-haut, il semblerait que le maintien de la quantité de lipides et de protéines traduise la conservation de l'état physiologique de l'organisme ou la capacité du métabolisme à répondre à la demande énergétique encourue. Cependant, même si les quantités totales de lipides et de protéines sont restées inchangées, il est possible que des différences en termes de composition lipidique et de protéique aient pu être observées si ces analyses avaient été faites. Ces informations auraient pu nous renseigner sur des changements éventuels de certaines voies métaboliques et donc peut-être à des changements au niveau du métabolisme cellulaire. La voie des protéines aurait pu être diminuée au profit de celle des lipides, menant ultimement à une diminution de la valeur calorique (cette réponse n'a pas été observé dans le Chapitre 1). La détermination des réserves énergétiques doit comprendre l'étude intégrée des mécanismes physiologiques et biochimiques aux niveaux cellulaire et de l'organisme entier afin de comprendre et décrire en détail les impacts des changements environnementaux sur la physiologie des organismes (Tracy *et al.*, 1982). La mise en place de méthodes pour déterminer le profil métabolomique, incluant les analyses de profils protéomiques et lipidomiques, est devenue essentielle dans l'étude des réponses physiologiques des organismes aux changements globaux. La lipidomique et la protéomique sont des approches analytiques novatrices qui permettent la détection quantitative et qualitative des lipides et des protéines à l'échelle cellulaire d'un organisme afin de reconstituer les changements éventuels de métabolites. Mon projet de maîtrise a fourni les tous premiers résultats en termes de

réponses énergétiques et de qualités nutritionnelle et organoleptique d'une population de crevette nordique en réponse à trois facteurs environnementaux combinés. Dans le futur, l'intégration de méthodes métabolomiques et génomiques constituera un outil essentiel à la détermination de la réponse physiologique à l'échelle des différents compartiments cellulaires et donc à la compréhension complète des mécanismes physiologiques responsables de la sensibilité ou la résistance des différentes populations à l'exposition combinée de plusieurs facteurs environnementaux dans le cadre des changements globaux.

RÉFÉRENCES

- Ab Lah, R. (2017). Biochemical composition of turbinid snails and its sensitivity to ocean climate change (Southern Cross University).
- Adeyeye, E. I., & Adubiaro, H. O. (2004). Chemical composition of shell and flesh of three prawn samples from Lagos lagoon. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(5), 411–414.
- AFNOR. (2000). Analyse sensorielle, méthodologie, directives générales pour la réalisation d'épreuves hédoniques en laboratoire d'évaluation sensorielle ou en salle en conditions contrôlées impliquant des consommateurs. XP V 09-500. Association Française de Normalisation.
- Anacleto, P., Maulvault, A. L., Bandarra, N. M., Repolho, T., Nunes, M. L., Rosa, R., & Marques, A. (2014). Effect of warming on protein, glycogen and fatty acid content of native and invasive clams. *Food Research International*, 64, 439–445.
- Anderson, M. J. (2005). Permutational multivariate analysis of variance. *Department of Statistics, University of Auckland, Auckland*, 26, 32-46.
- Angilletta Jr, M. J., & Angilletta, M. J. (2009). Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis. Oxford University Press.
- Anthony, J. A., Roby, D. D., & Turco, K. R. (2000). Lipid content and energy density of forage fishes from the northern Gulf of Alaska. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 248(1), 53-78.
- Apollonio, S., Stevenson, D. K., & Dunton, Jr E. E. (1986) Effects of temperature on the biology of the northern shrimp, *Pandalus borealis*, in the Gulf of Maine. *NOAA Technical Report NMFS 42*: iii + 22.
- Arnberg, M., Calosi, P., Spicer, J. I., Taban, I. C., Bamber, S. D., Westerlund, S., ... & Dupont, S. (2018). Effects of oil and global environmental drivers on two keystone marine invertebrates. *Scientific Reports*, 8(1).
- Arnberg, M., Calosi, P., Spicer, J. I., Tandberg, A. H. S., Nilsen, M., Westerlund, S., & Bechmann, R. K. (2013). Elevated temperature elicits greater effects than decreased pH on the development, feeding and metabolism of northern shrimp (*Pandalus borealis*) larvae. *Marine Biology*, 160(8), 2037–2048.

- Baliña, S., Temperoni, B., Lopez Greco, L. S., & Tropea, C. (2018). Losing Reproduction: Effect of High Temperature on Female Biochemical Composition and Egg Quality in a Freshwater Crustacean with Direct Development, the Red Cherry Shrimp, *Neocaridina davidi* (Decapoda, Atyidae). *The Biological Bulletin*, 234(3), 139-151.
- Balkas, T. I., Tuğrul, S., & Salihoğlu, İlkay. (1982). Trace metal levels in fish and crustacea from Northeastern Mediterranean coastal waters. *Marine Environmental Research*, 6(4), 281–289.
- Båmstedt, U. (1981). Water and organic content of boreal macrozooplankton and their significance for the energy content. *Sarsia*, 66(1), 59-66.
- Banks, R. E. (1966). The cold layer in the Gulf of St. Lawrence. *Journal of Geophysical Research*, 71(6), 1603-1610.
- Bergström, B. I. (2000). The Biology of *Pandalus*. *Advances in Marine Biology* (Vol. 38).
- Berthelin, C., Kellner, K., & Mathieu, M. (2000). Storage metabolism in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in relation to summer mortalities and reproductive cycle (West Coast of France). *Comparative Biochemistry and Physiology- B : Biochemistry and molecular biology*, 125(3), 359-369.
- Bourdages, H., Marquis, M. C., Nozères, C. & Ouellette-Plante, J. 2018. Assessment of northern shrimp stocks in the Estuary and Gulf of St. Lawrence in 2017: data from the research survey. *DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc.* 2018/057. iv + 67 p.
- Bourdages, H., & Marquis, M. (2019). Assessment of northern shrimp stocks in the Estuary and Gulf of St. Lawrence in 2017: commercial fishery data. *DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc.*
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254.
- Breitburg, D., Levin, L. A., Oschlies, A., Grégoire, M., Chavez, F. P., Conley, D. J., ... Zhang, J. (2018). Declining oxygen in the global ocean and coastal waters. *Science*, 359(6371).
- Brillon, S., Lambert, Y., & Dodson, J. (2005). Egg survival, embryonic development, and larval characteristics of northern shrimp (*Pandalus borealis*) females subject to different temperature and feeding conditions. *Marine Biology*, 147(4), 895–911.

- Brown, M. R., Sikes, A. L., Elliott, N. G., & Tume, R. K. (2008). Physicochemical factors of abalone quality: a review. *Journal of shellfish research*, 27(4), 835-843.
- Burmeister, A., Kingsley, M. C. S., & Siegstad, H. (2014). West Greenland trawl survey for *Pandalus borealis*, 2014, with reference to earlier results. *NAFO Sci Counc Res Doc*, 14, 058.
- Byrne, M., & Przeslawski, R. (2013). Multistressor impacts of warming and acidification of the ocean on marine invertebrates' life histories. *Integrative and Comparative Biology*, 53(4), 582–596.
- Caldeira, K., & Wickett, M. E. (2003). Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature*, 425(6956), 365–365.
- Calosi, P., Melatunan, S., Turner, L. M., Artioli, Y., Davidson, R. L., Byrne, J. J., ... & Rundle, S. D. (2017). Regional adaptation defines sensitivity to future ocean acidification. *Nature communications*, 8, 13994.
- Camacho, A. P., Delgado, M., Fernandez-Reiriz, M. J., & Labarta, U. (2003). Energy balance, gonad development and biochemical composition in the clam *Ruditapes decussatus*. *Marine Ecology Progress Series*, 258(1999), 133–145.
- Carter, C. G., & Houlihan, D. F. (2001). Protein Synthesis. *Fish Physiology*, 20, 31–75.
- Cerezo Valverde, J., Tomás Vidal, A., Martínez-Llorens, S., Pascual, M. C., Gairín, J. I., Estefanell, J., ... & García García, B. (2015). Selection of marine species and meals for cephalopod feeding based on their essential mineral composition. *Aquaculture Nutrition*, 21(5), 726–739.
- Chabot, D (2004). Chronic non-lethal levels of hypoxia limit distribution and growth of Atlantic cod (*Gadus morhua*) in the northern Gulf of St. Lawrence, Canada. p. 183-205, Proceedings of the 7th International Symposium on Fish Physiology, Toxicology and Water Quality, Tallinn, Estonia, May 12-15, 2003, EPA 600/R-04/049 183-205.
- Chabot, D., & Gilbert, D. (2013). Description of the Atlantic Large Aquatic Basin as a habitat for marine fish and invertebrates. *Climate change impacts, vulnerabilities and opportunities analysis of the marine Atlantic Basin. Sous la direction de NL Shackell, BJW Greenan, P. Pepin, D. Chabot et A. Warburton. Can. Manuscr. Rep. Fish. Aquat. Sci*, 3012, 1-15.
- Chabot D. & Claireaux G. (2018). Chapter 2 The ecophysiology of the Atlantic cod. In *Atlantic cod: the bio-ecology of the fish* (ed. G. Rose), pp. 27-86. Wiley Science.

- Cheung, W. W., Close, C., Lam, V., Watson, R., & Pauly, D. (2008). Application of macroecological theory to predict effects of climate change on global fisheries potential. *Marine Ecology Progress Series*, 365, 187-197.
- Cheung, W. W., Dunne, J., Sarmiento, J. L., & Pauly, D. (2011). Integrating ecophysiology and plankton dynamics into projected maximum fisheries catch potential under climate change in the Northeast Atlantic. *ICES Journal of Marine Science*, 68(6), 1008-1018.
- Claireaux, G., & Lagardère, J. P. (1999). Influence of temperature, oxygen and salinity on the metabolism of the European sea bass. *Journal of Sea Research*, 42(2), 157-168.
- Clark, S. H., Cadrin, S. X., Schick, D. F., Diodati, P. J., Armstrong, M. P., & McCarron, D. (2000) The Gulf of Maine northern shrimp (*Pandalus borealis*) Fishery: a review of the record. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 27: 193-226.
- Cochet, M., Brown, M., Kube, P., Elliott, N., & Delahunty, C. (2015). Understanding the impact of growing conditions on oysters: a study of their sensory and biochemical characteristics. *Aquaculture Research*, 46(3), 637-646.
- Cooley, S. R., & Doney, S. C. (2009). Anticipating ocean acidification's economic consequences for commercial fisheries. *Environmental Research Letters*, 4(2).
- Côté, I. M., Darling, E. S., & Brown, C. J. (2016). Interactions among ecosystem stressors and their importance in conservation. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1824), 20152592.
- Couturier, C. S., Andersen, N. G., Audet, C., & Chabot, D. (2013). Prey exoskeletons influence the course of gastric evacuation in Atlantic cod *Gadus morhua*. *Journal of fish biology*, 82(3), 789-805.
- Crain, C. M., Kroeker, K., & Halpern, B. S. (2008). Interactive and cumulative effects of multiple human stressors in marine systems. *Ecology Letters*, 11(12), 1304–1315.
- Daoud, D., Chabot, D., Audet, C., & Lambert, Y. (2007). Temperature induced variation in oxygen consumption of juvenile and adult stages of the northern shrimp, *Pandalus borealis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 347(1–2), 30–40.
- Daoud, D., Lambert, Y., Audet, C., & Chabot, D. (2010). Size and temperature-dependent variations in intermolt duration and size increment at molt of Northern Shrimp, *Pandalus borealis*. *Marine Biology*, 157(12), 2655–2666.

- DFO. (2018) a. 2017 value of Atlantic coast commercial landings, by region (thousand dollars). URL: <http://www.dfo-mpo.gc.ca/stats/commercial/land-debarq/sea-maritimes/s2017av-eng.htm>
- DFO. (2018) b. Assessment of Northern Shrimp stocks in the Estuary and Gulf of St. Lawrence in 2017. *DFO Can. Sci. Advis. Sec. Sci. Advis. Rep.*, 2018/015.
- Diaz, R. J. (2001). Overview of Hypoxia around the World. *Journal of Environment Quality*, 30(2), 275–281.
- Diaz, R. J., & Rosenberg, R. (2008). Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science*, 321(5891), 926–929.
- Dickson, A. G., Sabine, C. L., & Christian, J. L. (2007). Guide to Best Practices for Ocean CO₂ Measurements 2007.
- Dissanayake, A., Clough, R., Spicer, J. I., & Jones, M. B. (2010). Effects of hypercapnia on acid – base balance and osmo-/iono-regulation in prawns (Decapoda : Palaemonidae). *Aquatic Biology*, 11(1), 27–36.
- Doney, S. C., Fabry, V. J., Feely, R. A., & Kleypas, J. A. (2009). Ocean acidification: the other CO₂ problem.
- Donnelly, J., Torres, J. J., Hopkins, T. L., & Lancraft, T. M. (1994). Chemical composition of Antarctic zooplankton during austral fall and winter. *Polar Biology*, 14(3), 171–183.
- Dorey, N., Lançon, P., Thorndyke, M., & Dupont, S. (2013). Assessing physiological tipping point of sea urchin larvae exposed to a broad range of pH. *Global Change Biology*, 19(11), 3355–3367.
- Dupont-Prinet, A., Pillet, M., Chabot, D., Hansen, T., Tremblay, R., & Audet, C. (2013). Northern shrimp (*Pandalus borealis*) oxygen consumption and metabolic enzyme activities are severely constrained by hypoxia in the Estuary and Gulf of St. Lawrence. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 448, 298–307.
- Dupont-Prinet, A., Vagner, M., Chabot, D., & Audet, C. (2013). Impact of hypoxia on the metabolism of Greenland halibut (*Reinhardtius hippoglossoides*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 70(3), 461–469.
- Dupont, S., Hall, E., Calosi, P., & Lundve, B. (2014). First Evidence of Altered Sensory Quality in a Shellfish Exposed to Decreased pH Relevant to Ocean Acidification. *Journal of Shellfish Research*, 33(3), 857–861.

- Dworjanyn, S. A., & Byrne, M. (2018). Impacts of ocean acidification on sea urchin growth across the juvenile to mature adult life-stage transition is mitigated by warming. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285(1876).
- Ekstrom, J. A., Suatoni, L., Cooley, S. R., Pendleton, L. H., Waldbusser, G. G., Cinner, J. E., ... & Portela, R. (2015). Vulnerability and adaptation of US shellfisheries to ocean acidification. *Nature Climate Change*, 5(3), 207–214.
- Fabry, V., Seibel, B., Feely, R., & Orr, J. (2008). Impacts of Ocean Acidification On Marine Fauna and Ecosystem Processes. *ICES Journal of Marine Science*, 65(3), 414-432.
- FAO. (2018). La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture 2018. Atteindre les objectifs de développement durable. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Fehsendfeld, S., & Weihrauch, D. (2013). Differential expression and induction of two carbonic anhydrase isoforms in the gills of the euryhaline green crab, *Carcinus maenas*, in response to low salinity. *Comparative Biochemistry and Physiology- A Molecular and Integrative Physiology*, 164, 54–65.
- Fernandes, J. A., Papathanasopoulou, E., Hattam, C., Queirós, A. M., Cheung, W. W. W. L., Yool, A., ... & Barange, M. (2017). Estimating the ecological, economic and social impacts of ocean acidification and warming on UK fisheries. *Fish and Fisheries*, 18(3), 389–411.
- Findlay, H. S., Kendall, M. A., Spicer, J. I., & Widdicombe, S. (2009). Future high CO₂ in the intertidal may compromise adult barnacle *Semibalanus balanoides* survival and embryonic development rate. *Marine Ecology Progress Series*, 389, 193–202.
- Fry, F. E. J. (1971). The effect of environmental factors on the physiology of fish. In *Fish physiology*. Edited by W.S. Hoar and D.J. Randall. Academic Press New-York Vol. 6. pp. 1–98.
- Galbraith, P., Chassé, J., Caverhill, C., Nicot, P., Gilbert, D., Pettigrew, B., ... & Lafleur, C. (2019). Physical Oceanographic Conditions in the Gulf of St. Lawrence in 2018. *DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc.*, (2017/044), v + 91 p.
- Galois, R. (1987). Les lipides neutres chez les crustacés Décapodes: métabolisme et besoins. *Oceanis*, 13(2), 197-215.
- Garzke, J., Hansen, T., Ismar, S. M., & Sommer, U. (2016). Combined effects of ocean warming and acidification on copepod abundance, body size and fatty acid content. *PLoS One*, 11(5), e0155952.

- Gattuso, J. P., Magnan, A., Billé, R., Cheung, W. W. L., Howes, E. L., Joos, F., ... & Turley, C. (2015). Contrasting futures for ocean and society from different anthropogenic CO₂ emissions scenarios. *Science*, 349(6243).
- Gerland, P., Raftery, A. E., Ševčíková, H., Li, N., Gu, D., Spoorenberg, T., ... & Wilmoth, J. (2014). World population stabilization unlikely this century. *Science*, 346(6635), 234–237.
- Ghalambor, C. K., McKay, J. K., Carroll, S. P., & Reznick, D. N. (2007). Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional ecology*, 21(3), 394-407.
- Gilbert, D., Sundby, B., Gobeil, C., Mucci, A., & Gagne, A. (2005). A Seventy-Two-Year Record of Diminishing Deep-Water Oxygen in the St. Lawrence Estuary: The Northwest Atlantic Connection. *Limnology and Oceanography*, 50(5), 1654-1666.
- Golley, F. B. (1961). Energy values of ecological materials. *Ecology*, 42(3), 581-584.
- Grieshaber, M. K., Hardewig, I., Kreutzer, U., & Pörtner, H. O. (1993). Physiological and metabolic responses to hypoxia in invertebrates. In *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, Volume 125* (pp. 43-147). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Gruber, N. (2011). Warming up, turning sour, losing breath: Ocean biogeochemistry under global change. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 369(1943), 1980–1996.
- Guppy, M., & Withers, P. (1999). Metabolic depression in animals: physiological perspectives and biochemical generalisations. *Biological Reviews*, 74(1999), 1–40.
- Hagerman, L. (1998). Physiological flexibility; a necessity for life in anoxic and sulphidic habitats. *Hydrobiologia*, 375, 241–254.
- Hall, P. O. J., & Aller, R. C. (1992). Rapid, Small-Volume, Flow Injection Analysis for $\sum\text{CO}_2$ and NH_4^+ in Marine and Freshwaters. *Limnology*, 37(5), 1113–1119.
- Halpern, B. S., Walbridge, S., Selkoe, K. A., Kappel, C. V., Micheli, F., D'Agrosa, C., ... & Watson, R. (2008). A global map of human impacts on marine ecosystems. *Science*, 319(February), 948–953.
- Halpern, B. S., Selkoe, K. A., Micheli, F., & Kappel, C. V. (2007). Evaluating and Ranking the Vulnerability of Global Marine Ecosystems to Anthropogenic Threats. *Conservation Biology*, 21(5), 1301–1315.

- Hans, S., Fehsenfeld, S., Treberg, J. R., & Weihrauch, D. (2014). Acid-base regulation in the Dungeness crab (*Metacarcinus magister*). *Marine Biology*, 161(5), 1179–1193.
- Hansen, J., Sato, M., Ruedy, R., Lo, K., Lea, D. W., & Medina-Elizade, M. (2006). Global temperature change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(39), 14288–14293.
- Hardie, D., Covey, M., Nickerson, K., King, M. (2015) Scotian shelf shrimp 2014-2015. *DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc.*, v + 44.
- Haynes, E. B. & Wigley, R. L. (1969) Biology of the northern shrimp, *Pandalus borealis*, in the Gulf of Maine. *Transactions of the American Fisheries Society*, 98: 60-76.
- Hilmi, N., Allemand, D., Dupont, S., Safa, A., Haraldsson, G., Nunes, P. A. L. D., ... & Cooley, S. R. (2013). Towards improved socio-economic assessments of ocean acidification's impacts. *Marine Biology*, 160(8), 1773–1787.
- Hirayama, F., Lee, A. H., Oura, A., Mori, M., Hiramatsu, N., & Taniguchi, H. (2010). Dietary intake of six minerals in relation to the risk of chronic obstructive pulmonary disease. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 19(4), 572-577.
- Holman, J. D., & Hand, S. C. (2009). Metabolic depression is delayed and mitochondrial impairment averted during prolonged anoxia in the ghost shrimp, *Lepidophthalmus louisianensis* (Schmitt, 1935). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 376(2), 85-93.
- Hondolero, D., Bluhm, B. A., & Iken, K. (2012). Caloric content of dominant benthic species from the northern Bering and Chukchi Seas: Historical comparisons and the effects of preservation. *Polar Biology*, 35(4), 637–644.
- Hopkins, C. C. E., Sargent, J. R., & Nilssen, E. M. (1993). Total lipid content, and lipid and fatty acid composition of the deep-water prawn *Pandulus borealis* from Balsfjord, northern Norway: growth and feeding relationships. *Marine Ecology Progress Series*, 96, 217–228.
- Hunter, M., Whitemore, K., Atwood, R., Richards, A., Miller, A., Drew, K., & Ware, M. (2018). Assessment report for Gulf of Maine Northern shrimp - 2018. 1(March), 1–82.
- Hrycik, AR, Almeida, LZ and Höök, TO (2017). Sub-lethal effects on fish provide insight into a biologically-relevant threshold of hypoxia. *Oikos* 126, 307-317.

- ICES (2006). Pandalus Assessment Working Group Report (WGPAND 2005). ICES Advisory Committee on Fisheries Management. International Council for the Exploration of the Sea C.M. 2006/ACFM:10 Ref. G, p. 76.
- IPCC. (2014). Climate Change 2014 Synthesis Report - IPCC. Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, 2–26.
- Jablonski, D., & Lutz, R. A. (1983). Larval ecology of marine benthic invertebrates: paleobiological implications. *Biological Reviews*, 58(1), 21-89.
- Jackson, D. A. (1993). Stopping rules in principal components analysis: A comparison of heuristical and statistical approaches. *Ecology*, 74, 2204–2214.
- Jakob, E. M., Marshall, S. D., & Uetz, G. W. (1996). Estimating fitness : a comparison of body condition indices Estim. *Oikos*, 77(January), 61–67.
- Jimenez, A. G., & Kinsey, S. T. (2015). Energetics and metabolic regulation. The natural history of the Crustacea, 4, 391-419.
- Jones, E. P., Zemlyak, F. & Stewart, P. (1992). Operating manual for the Bedford Institute of Oceanography automated dissolved oxygen titration system. Dartmouth, Nova Scotia: Bedford Institute of Oceanography, *Canadian Technical Report of Hydrography and Ocean Sciences* 138, iv+51 pp.
- Jorde, P. E., Søvik, G., Westgaard, J. I., Albretsen, J., André, C., Hvingel, C., ... & Jørstad, K. E. (2015). Genetically distinct populations of northern shrimp, *Pandalus borealis*, in the North Atlantic: adaptation to different temperatures as an isolation factor. *Molecular Ecology*, 24(8), 1742-1757.
- Kroeker, K. J., Kordas, Rebecca, L., & Harley, C. D. G. (2017). Embracing interactions in ocean acidification research: confronting multiple stressor scenarios and context dependence. *Biology Letters*, 13(3), 20160802.
- Lambert, Y., & Dutil, J.-D. (1997). Can simple condition indices be used to monitor and quantify seasonal changes in the energy reserves of cod (*Gadus morhua*)? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54(S1), 104–112.
- Langenbuch, M., Bock, C., Leibfritz, D., & Pörtner, H. O. (2006). Effects of environmental hypercapnia on animal physiology: A ¹³C NMR study of protein synthesis rates in the marine invertebrate *Sipunculus nudus*. *Comparative Biochemistry and Physiology- A Molecular and Integrative Physiology*, 144(4), 479–484.

- Langenbuch, M., & Pörtner, H. O. (2003). Energy budget of hepatocytes from Antarctic fish (*Pachycara brachycephalum* and *Lepidonotothen kempfi*) as a function of ambient CO₂: pH-dependent limitations of cellular protein biosynthesis? *Journal of Experimental Biology*, 206(22), 3895–3903.
- Lardies, M. A., Arias, M. B., & Bacigalupe, L. D. (2010). Phenotypic covariance matrix in life-history traits along a latitudinal gradient: a study case in a geographically widespread crab on the coast of Chile. *Marine Ecology Progress Series*, 412, 179-187.
- Lauzier, L. M., & Trites, R. W. (1958). The Deep Waters in the Laurentian Channel. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 15, 1247–1257.
- Lavoie, D., Lambert, N., & Gilbert, D. (2017). Projections of Future Trends in Biogeochemical Conditions in the Northwest Atlantic Using CMIP5 Earth System Models. *Atmosphere - Ocean*, 1–23.
- Lavoie, D., Starr, M., Chassé, J., Gilbert, D., Chabot, D., & Lambert, N. (2015). The Gulf of St Lawrence biogeochemical model : a tool to study the evolution of hypoxic conditions and other habitat changes. ICES CM 2015/R:14, (September), 1–2.
- Lawson, J. W., Magalhaes, A. M., & Miller, E. H. (1998). Important prey species of marine vertebrate predators in the northwest Atlantic : proximate composition and energy density. *Marine Ecology Progress Series*, 164, 13–20.
- Leaf, R. T., & Oshima, M. C. (2019). Construction and evaluation of a robust trophic network model for the northern Gulf of Mexico ecosystem. *Ecological Informatics*, 50(December 2018), 13–23.
- Lemasson, A. J., Kuri, V., Hall-Spencer, J. M., Fletcher, S., Moate, R., & Knights, A. M. (2017). Sensory Qualities of Oysters Unaltered by a Short Exposure to Combined Elevated pCO₂ and Temperature. *Frontiers in Marine Science*, 4(November), 1–10.
- Levin, L. A., Ekau, W., Gooday, A. J., Jorissen, F., Middelburg, J. J., Naqvi, S. W. A., ... & Zhang, J. (2009). Effects of natural and human-induced hypoxia on coastal benthos. *Biogeosciences*, 6, 2063–2098.
- Lewis, E., Wallace, D. W. R. (1998). Program Developed for CO₂ System Calculations. Carbon Dioxide Information Analysis Center, Oak Ridge National Laboratory, U.S. Department.
- Lighton, J. R. (2018). Measuring metabolic rates: a manual for scientists. Oxford University Press.

- López, I. R., Kalman, J., Vale, C., & Blasco, J. (2010). Influence of sediment acidification on the bioaccumulation of metals in *Ruditapes philippinarum*. *Environmental Science and Pollution Research*, 17(9), 1519–1528.
- Magozzi, S., & Calosi, P. (2015). Integrating metabolic performance, thermal tolerance, and plasticity enables for more accurate predictions on species vulnerability to acute and chronic effects of global warming. *Global Change Biology*, 21(1), 181–194.
- MAPAQ (2015) Monographie de l'industrie de la crevette nordique au Québec.
- Matear, R. J., & Hirst, A. C. (2003). Long-term changes in dissolved oxygen concentrations in the ocean caused by protracted global warming. *Global Biogeochemical Cycles*, 17(4).
- Martinsdóttir, E., Sveinsdóttir, K., Lutén, J., Schelvis-Smit, R., & Hyldig, G. (2001). Reference manual for the fish sector : Sensory evaluation of fish freshness. Ijmuiden: QIM Eurofish.
- McClintock, J. B., Amsler, M. O., Amsler, C. D., & Baker, B. J. (2006). The biochemical composition, energy content, and chemical antifeedant defenses of the common Antarctic Peninsular sea stars *Granaster nutrix* and *Neosmilaster georgianus*. *Polar Biology*, 29(7), 615–623.
- McDowell, L. R. (2003). Minerals in Animal and Human Nutrition (Academic P, Vol. 992).
- McLellan, H. J. (1957). On the Distinctness and Origin of the Slope Water off the Scotian Shelf and its Easterly Flow South of the Grand Banks. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 14(2), 213–239.
- McMahon, B. R. (2001). Respiratory and circulatory compensation to hypoxia in crustaceans. *Respiration Physiology*, 128, 349-364.
- McNab, B. K. (2002). The physiological ecology of vertebrates: a view from energetics. Cornell University Press.
- Melzner, F., Gutowska, M. A., Langenbuch, M., Dupont, S., Lucassen, M., Thorndyke, M. C., ... & Pörtner, H. O. (2009). Physiological basis for high CO₂ tolerance in marine ectothermic animals: Pre-adaptation through lifestyle and ontogeny? *Biogeosciences*, 6(10), 2313–2331.
- Menu-Courey, K., Noisette, F., Piedalue, S., Daoud, D., Blair, T., Blier, P. U., ... & Calosi, P. (2019). Energy metabolism and survival of the juvenile recruits of the American

- lobster (*Homarus americanus*) exposed to a gradient of elevated seawater $p\text{CO}_2$. *Marine Environmental Research*, 143(June 2018), 111–123.
- Metzger, R., Sartoris, F. J., Langenbuch, M., & Pörtner, H. O. (2007). Influence of elevated CO_2 concentrations on thermal tolerance of the edible crab *Cancer pagurus*. *Journal of Thermal Biology*, 32, 144–151.
- Mitchell, J. F. B. (1989). The “Greenhouse” Effect and Climate Change. *Reviews of Geophysics*, 27(89), 115–139.
- Moberg, G. P. (2000). Biological response to stress: implications for animal welfare. *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*, 1, 21.
- Mucci, A., Starr, M., Gilbert, D., & Sundby, B. (2011). Acidification of Lower St. Lawrence estuary bottom waters. *Atmosphere - Ocean*, 49(3), 206–218.
- Mucci, A., Levasseur, M., Gratton, Y., Martias, C., Scarratt, M., Gilbert, D., ... & Lansard, B. (2017). Tidally induced variations of pH at the head of the Laurentian Channel. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 75(7), 1128-1141.
- Oksanen J., Blanchet G. F., Friendly M., Kindt R., Legendre P., McGlenn D., Minchin P. R., O'Hara R. B., Simpson G. L., Solymos P., Stevens M. H. H., Szoecs E. & Wagner H. (2018). vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-3. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Oksuz, A., Ozyilmaz, A., Aktas, M., Gercek, G., & Motte, J. (2009). A comparative study on proximate, mineral and fatty acid compositions of deep seawater rose shrimp (*Parapenaeus longirostris*, Lucas 1846) and red shrimp (*Plesionika martia*, A. Milne-Edwards, 1883). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(1), 183–189.
- Orr, D. & Sullivan, D. (2013) The February 2013 assessment of northern shrimp (*Pandalus borealis*) off Labrador and northeastern Newfoundland. *DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc.* : vii + 144.
- Ouellet, P., Chabot, D., Calosi, P., Orr, D., & Galbraith, P. S. (2017). Regional variations in early life stages response to a temperature gradient in the northern shrimp *Pandalus borealis* and vulnerability of the populations to ocean warming. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 497(July), 50–60.
- Pane, E. F., & Barry, J. P. (2007). Extracellular acid-base regulation during short-term hypercapnia is effective in a shallow-water crab, but ineffective in a deep-sea crab. *Marine Ecology Progress Series*, 334, 1–9.

- Paine, R. T. (1971). The measurement and application of the calorie to ecological problems. *Annual review of ecology and systematics*, 2(1), 145-164.
- Papadopoulos, L. S. & Finne, G. (1986). Effect of Environmental Salinity on Sensory Characteristics of Penaeid Shrimp. *Journal of Food Science*, 51(3), 812–814.
- Parsons, D. G., Colbourne, E. B., Lilly, G. R., Kulka, D. W. (1998) Northern Shrimp (*Pandalus borealis*) on Flemish Cap (NAFO Division 3M) - Oceanography, Fishery and Biology. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 24: 1-26.
- Parsons, D. G. (2005). Predators of northern shrimp, *Pandalus borealis* (Pandalidae), throughout the North Atlantic. *Marine Biology Research*, 1(1), 48–58.
- Peck, L. S. (2002). Ecophysiology of Antarctic marine ectotherms: limits to life. In *Ecological Studies in the Antarctic Sea Ice Zone* (pp. 221-230). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Petchey, O. L., McPhearson, P. T., Casey, T. M., & Morin, P. J. (1999). Environmental warming alters food-web structure and ecosystem function. *Nature*, 402(6757), 69.
- Pillet, M., Dupont-Prinet, A., Chabot, D., Tremblay, R., & Audet, C. (2016). Effects of exposure to hypoxia on metabolic pathways in northern shrimp (*Pandalus borealis*) and Greenland halibut (*Reinhardtius hippoglossoides*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 483(October), 88–96.
- Pinheiro J., Bates D., DebRoy S., Sarkar D., R Core Team (2018). *nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*. R package version 3.1-137, <URL: <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>>.
- Pollock, MS, Clarke, LMJ and Dubé, MG (2007). The effects of hypoxia on fishes: from ecological relevance to physiological effects. *Environmental Reviews*, 15, 1-14.
- Pörtner, H. O. (2002). Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. *Comparative Biochemistry and Physiology- A Molecular and Integrative Physiology*, 132(April 2001), 739–761.
- Pörtner, H. O. (2010). Oxygen- and capacity-limitation of thermal tolerance: a matrix for integrating climate-related stressor effects in marine ecosystems. *Journal of Experimental Biology*, 213(6), 881–893.

- Pörtner, H. O., Langenbuch, M., & Michaelidis, B. (2005). Synergistic effects of temperature extremes, hypoxia, and increases in CO₂ on marine animals: From Earth history to global change. *Journal of Geophysical Research C: Oceans*, 110(9), 1–15.
- Pörtner, H. O. (2001). Climate change and temperature-dependent biogeography: oxygen limitation of thermal tolerance in animals. *Naturwissenschaften*, 88(4), 137–146.
- Pourang, N., & Amini, G. (2001). Distribution of trace elements in tissues of two shrimp species from persian gulf and effects of storage temperature on elements transportation. *Water, Air, and Soil Pollution*, 129, 229–243.
- R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rabalais, N. N., Zhang, J., Gilbert, D., Levin, L. A., Turner, R. E., & Díaz, R. J. (2010). Dynamics and distribution of natural and human-caused hypoxia. *Biogeosciences*, 7(2), 585–619.
- Raymont, J. E. G., Austin, J., & Linford, E. (1967). The biochemical composition of certain oceanic zooplanktonic decapods. *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts*, 14(1), 113–115. RDA (1989). "Recommended Dietary Allowances," 10th ed. Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences, Washington, D.C.
- Reipschläger, A., & Pörtner, H. O. (1996). Metabolic depression during environmental stress: the role of extracellular versus intracellular pH in *Sipunculus nudus*. *Journal of experimental biology*, 199(8), 1801-1807.
- Ruiz, C., Martinez, D., Mosquera, G., Abad, M., & Sanchez, J. L. (1992). Seasonal variations in condition, reproductive activity and biochemical composition of the flat oysters, *Ostrea edulis* from San Cibrán (Galicia, Spain). *Marine Biology*, 112, 67–74.
- Sabine, C. L., Feely, R. A., Gruber, N., Key, R. M., Lee, K., Bullister, J. L., ... & Rios, A. F. (2004). The oceanic sink for anthropogenic CO₂. *Science*, 305, 367–371.
- Shahidi, F., & Botta, J. R. (2012). *Seafoods: chemistry, processing technology and quality*. Springer Science & Business Media.
- Sanderson, E. W., Jaiteh, M., Levy, M. A., Redford, K. H., Wannebo, A. V., & Woolmer, G. (2002). The Human Footprint and the Last of the Wild. *Bioscience*, 52(10), 891–904.

- Sarower, M. G., Hasanuzzaman, A. F. M., Biswas, B., & Abe, H. (2012). Taste producing components in fish and fisheries products: A review. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, 2(2), 113.
- Schaafsma, F. L., Cherel, Y., Flores, H., van Franeker, J. A., Lea, M. A., Raymond, B., & van de Putte, A. P. (2018). Review: the energetic value of zooplankton and nekton species of the Southern Ocean. *Marine Biology*, 165(8), 129.
- Schultz, E. T., & Conover, D. O. (1997). Latitudinal differences in somatic energy storage: adaptive responses to seasonality in an estuarine fish (Atherinidae: *Menidia menidia*). *Oecologia*, 109(4), 516–529.
- Shumway, S. E., Perkins, H. C., Schick, D. F., & Stickney, A. P. (1985). Synopsis of Biological Data on the Pink Shrimp, *Pandalus borealis* Kroyer, 1838.
- Siddon, E. C., Heintz, R. A., & Mueter, F. J. (2013). Conceptual model of energy allocation in walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) from age-0 to age-1 in the southeastern Bering Sea. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 94, 140–149.
- Siferd TD (2015) 2015 Assessment of Northern Shrimp (*Pandalus borealis*) and Striped Shrimp (*Pandalus montagui*) in the Eastern and Western Assessment Zones (SFAs Nunavut, Nunavik and Davis Strait). *DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc.* : v + 70.
- Simard, Y., & Savard, L. (1990). Variability, spatial patterns and scales of similarity in size–frequency distributions of the northern shrimp (*Pandalus borealis*) and its migrations in the Gulf of St. Lawrence. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47(4), 794–804.
- Small, D. P., Calosi, P., Boothroyd, D., Widdicombe, S., & Spicer, J. I. (2015). Stage-Specific Changes in Physiological and Life-History Responses to Elevated Temperature and $p\text{CO}_2$ during the Larval Development of the European Lobster *Homarus gammarus* (L.). *Physiological and Biochemical Zoology*, 88(5), 494–507.
- Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (1995). *Biometry*. New York: W. H. H. Freeman and Company.
- Somero, G. N., & Dahlhoff, E. (2008). Stenotherms and eurytherms: mechanisms establishing thermal. *Animals and temperature: Phenotypic and evolutionary adaptation*, 59, 53.
- Somero, G. N. (2010). The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine “winners” and “losers.” *Journal of Experimental Biology*, 213(6), 912–920.

- Spicer, J. I., Raffo, Æ. A., & Widdicombe, Æ. S. (2007). Influence of CO₂ -related seawater acidification on extracellular acid – base balance in the velvet swimming crab *Necora puber*. *Marine Biology*, 151, 1117–1125.
- Spitz, J., Mourocq, E., Schoen, V., & Ridoux, V. (2010). Proximate composition and energy content of forage species from the Bay of Biscay: high-or low-quality food? *ICES Journal of Marine Science*, 67(5), 909-915.
- Stapp, L. S., Kreiss, C. M., Pörtner, H. O., & Lannig, G. (2015). Differential impacts of elevated CO₂ and acidosis on the energy budget of gill and liver cells from Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Comparative Biochemistry and Physiology- A Molecular and Integrative Physiology*, 187, 160–167.
- Stoker, S. W. (1978). Benthic invertebrate macrofauna of the Eastern continental shelf of the Bering and Chukchi seas.
- Stortini, C. H., Chabot, D., & Shackell, N. L. (2017). Marine species in ambient low-oxygen regions subject to double jeopardy impacts of climate change. *Global Change Biology*, 23(6), 2284–2296.
- Tabachnick, B. G., & Fidell, L. S. (2006). Using multivariate statistics (5th international ed.).
- Tacon, A. G. J., & Metian, M. (2013). Fish Matters: Importance of Aquatic Foods in Human Nutrition and Global Food Supply. *Reviews in Fisheries Science*, 21(1), 22–38.
- Tate, R. D., Benkendorff, K., Ab Lah, R., & Kelaher, B. P. (2017). Ocean acidification and warming impacts the nutritional properties of the predatory whelk, *Dicathais orbita*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 493, 7–13.
- Todgham, A. E., & Stillman, J. H. (2013). Physiological responses to shifts in multiple environmental stressors: Relevance in a changing world. *Integrative and Comparative Biology*, 53(4), 539–544.
- Tracy, C. R., Turner, J. S., Bartholomew, G. A., Bennett, A., Billings, W. D., Chabot, B. F., ... & King, J. R. (1982). What is physiological ecology? *Bulletin of the Ecological Society of America*, 63(4), 340-347.
- Trenberth, K. E., Jones, P. D., Ambenje, P., Bojariu, R., Easterling, D., Tank, A. K., ... & Zhai, P. (2007). Observations: Surface and Atmospheric Climate Change. In *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*.

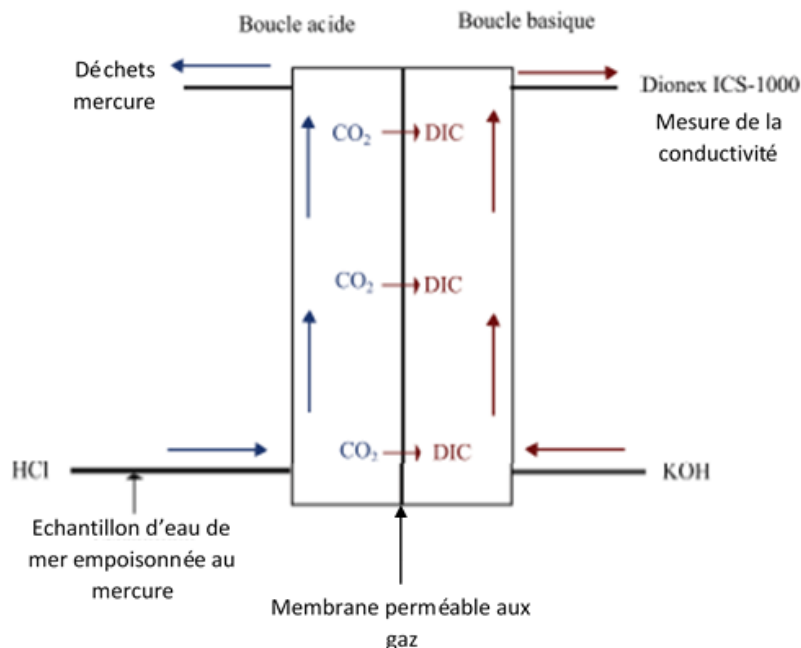
- van de Putte, A., Flores, H., Volckaert, F., & van Franeker, J. A. (2006). Energy content of Antarctic mesopelagic fishes: implications for the marine food web. *Polar Biology*, 29(12), 1045-1051.
- Vaquer-Sunyer, R., & Duarte, C. M. (2008). Thresholds of hypoxia for marine biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(40), 15452–15457.
- Vaquer-Sunyer, R., & Duarte, C. M. (2011). Temperature effects on oxygen thresholds for hypoxia in marine benthic organisms. *Global Change Biology*, 17(5), 1788–1797.
- Verberk, W. C., Leuven, R. S., van der Velde, G., & Gabel, F. (2018). Thermal limits in native and alien freshwater peracarid Crustacea: the role of habitat use and oxygen limitation. *Functional ecology*, 32(4), 926-936.
- Venugopal, V., & Gopakumar, K. (2017). Shellfish: Nutritive Value, Health Benefits, and Consumer Safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(6), 1219–1242.
- Whiteley, N. M. (2011). Physiological and ecological responses of crustaceans to ocean acidification. *Marine Ecology Progress Series*, 430, 257–271.
- WHO (World Health Organization) (1996). In "Trace Elements in Human Nutrition and Health" p. 187. World Health Organization, Geneva.
- Widdows, J., Newell, R. I. E., & Mann, R. (1989). Effects of Hypoxia and Anoxia on Survival, Energy Metabolism, and Feeding of Oyster Larvae (*Crassostrea virginica*, Gmelin). *Biological Bulletin*, 177(1), 154–166.
- Wieland, K., Siegstad, H., Sanchez, J. M. C., & Orr, D. (2012). Recent decline of northern shrimp stocks in the Northwest Atlantic—Coincidence, multiple causes or response to synchronous changes in the environment? The Ecosystem Studies of Sub-Arctic Seas (ESSAS) Program.
- Wu, R. S. S. (2002). Hypoxia: From molecular responses to ecosystem responses. *Marine Pollution Bulletin*, 45(1–12), 35–45.
- Yang, L. H., & Rudolf, V. H. W. (2010). Phenology, ontogeny and the effects of climate change on the timing of species interactions. *Ecology letters*, 13(1), 1-10.
- Yatoo, M. I., Saxena, A., Deepa, P. M., Habeab, B. P., Devi, S., Jatav, R. S., & Dimri, U. (2013). Role of trace elements in animals: a review. *Veterinary world*, 6(12), 963.

Zeebe, R. E., & Wolf-Gladrow, D. A. (2001). CO₂ in Seawater: Equilibrium, Kinetics, Isotopes. In *Elsevier Oceanography Series*.

Zenteno-Savín, T., Saldierna, R., & Ahuejote-Sandoval, M. (2006). Superoxide radical production in response to environmental hypoxia in cultured shrimp. *Comparative Biochemistry and Physiology- C : Toxicology & Pharmacology*, 142(3-4), 301-308.

ANNEXES

Annexe 1 : Schéma du système de colonne et cellule d'échange gazeuses pour la détermination de la concentration de carbone inorganique dissous (DIC) (Schéma modifié du protocole de Steeven Ouellet, avril 2017).



Annexe 2 : Protocole pour la détermination des contenus énergétiques d'échantillons de crevette à l'aide de la semi micro bombe calorimétrique PARR 6725

Important : Toujours effectuer les manipulations avec des gants afin de ne pas contaminer les échantillons (gras, etc.).

Mise en marche de la bombe calorimétrique

1. Allumer l'appareil (interrupteur à l'arrière) et ouvrir la valve de la bombonne d'oxygène. La pression doit être de 450 psi.
2. Sur l'appareil, entrer *101, **Enter**, **Step**, **Done**. L'appareil est maintenant à ON. Prévoir environ 30 minutes d'attente pour que l'appareil atteigne 35 °C et que le voyant **STANDBY** s'allume.

Première calibration et standardisation

Pour la 1^{ère} standardisation de l'appareil, faire brûler une dizaine de pastilles d'acide benzoïque 0,2 g et déterminer le coefficient de variation entre les 10 coups de bombe. Ce coefficient ne doit pas être supérieur à 0.15, sinon il faut recommencer des coups de bombe jusqu'à obtenir un coefficient de 0.15 ou moins (Manuel Parr).

Attention, on ne doit pas avoir de message d'erreur « Mysfire » durant ces 10 coups de bombe, sinon il faut recommencer et déterminer le problème éventuel.

Préparation des tissus

3. Laver les petites nacelles en aluminium au savon anti-gras, rincer à l'eau chaude, puis à l'eau millipore. Cuire ensuite les nacelles à 500 °C pendant au moins 4h. Une fois les nacelles stériles, les conserver dans de l'aluminium fermé dans le laboratoire.
4. Pré-peser les nacelles d'aluminium, les identifier pour chaque échantillon de tissus avec **deux** nacelles pour **un** échantillon et les placer dans l'ordre dans le dessiccateur. Noter les poids et les informations sur la feuille de données.
5. Sortir les tissus congelés des eppendorfs du -80 °C et les faire sécher à l'étuve à 65 °F durant 48h au laboratoire B-460.
Une fois les échantillons secs, immédiatement les placer au dessiccateur. (Si besoin, préparer des diérites d'avance)
6. Broyer les tissus secs à l'aide d'un mortier propre pour homogénéiser, peser l'échantillon à la balance (avec une précision de $\pm 0,0005$ g) dans le laboratoire sec. Noter le poids.
7. Diviser en l'échantillon en trois parties : deux sous-échantillons pour 2 coups de bombe et un sous-échantillon pour la détermination du contenu en cendres. Et peser chaque sous échantillon. Noter les poids.
8. Placer les tissus secs dans le dessiccateur. Conserver au dessiccateur les tissus à travailler le jour même. Si, par manque de temps, tous les échantillons n'ont pu être analysés le jour même, les recongeler dans le dessiccateur. Les repasser 1 à 2h à l'étuve avant leur analyse le lendemain. Le mieux serait de décongeler chaque jour exactement le bon nombre d'échantillons qu'on souhaite passer (attention penser qu'on travaille en duplicata pour chaque individu !)
9. Presser les deux sous-échantillons pour les coups de bombe en 2 pastilles de minimum 25 mg à l'aide du presseur adapté.

Procédure de détermination du contenu en cendres

10. Pour les échantillons conservés pour les cendres, numéroter et peser une nacelle d'aluminium ($\pm 0,0005$ g).
11. Placer l'échantillon dans la nacelle (préalablement numéroté et pesé) et noter le poids ($\pm 0,0005$ g).
12. Placer les nacelles dans le four à combustion à 500°C pendant 24 heures.
13. Après 24 heures sortir les plateaux les laisser tempérer, peser à nouveau ($\pm 0,0005\text{g}$) et noter le poids. **NE PAS JETER LES ECHANTILLONS AVANT D'AVOIR CALCULE LE CONTENU EN CENDRES.**
14. Calculer le contenu en cendre si les valeurs obtenues ≥ 20 %, exécuter la procédure de détermination du contenu en carbonate, sinon les corrections sont à négliger (Paine, 1966 et 1971).

Procédure de détermination du contenu en carbonate

16. Pour chaque échantillon ayant obtenu une quantité en cendres ≥ 20 %, numéroter et peser un creuset ($\pm 0,0005$ g). Transférer le contenu du plateau dans le creuset et noter le poids ($\pm 0,0005$ g) (Paine 1966).
17. Placer les creusets dans le four à combustion à 900°C pendant 5 heures.
18. Après 5 heures sortir les creusets, les laisser refroidir à température ambiante, peser à nouveau ($\pm 0,0005\text{g}$) et noter le poids.

Procédure pour déterminer le contenu en énergie d'un échantillon

20. Au début de chaque nouvelle session (tous les jours donc), passer une pastille de 20 mg d'acide benzoïque dans la bombe et vérifier que les valeurs attendues soient près de celles attendues (6318 cal g^{-1} , Parr Instrument Company, Moline, U.S.A.). Ne pas poursuivre sans avoir refait un étalonnage complet si les valeurs ne correspondent pas à ce qu'on attend !! Noter la valeur sur la feuille de données.
Si on utilise deux bombes différentes en alternance, il faut toujours faire la standardisation pour les deux bombes !
21. D'un échantillon à l'autre, toujours alterner entre la bombe 1 et la bombe 2 et noter quelle bombe a été utilisée.
22. Placer la tête de la bombe sur le support et insérer la cupule. Assurez-vous que le tout est stable en penchant légèrement la cupule.
23. Couper le fusible de 10 cm (d'un pli à l'autre sur la bobine) et le peser. Installer le de façon à ce qu'il touche à l'échantillon ou à l'acide benzoïque **sans toucher la cupule** (voir manuel Parr).

24. **Mouiller le joint d'étanchéité** de la tête de la bombe à l'aide d'un doigt humidifié (sinon elle va faire des bulles quand on la mettra dans l'eau et cela signifie qu'elle n'est pas étanche), mettre la tête sur la bombe et visser. Lorsqu'on humidifie le joint, **faire attention de ne pas mettre d'eau sur l'échantillon qui est dans la cupule.**
25. Fermer la valve d'échappement des gaz. Placer l'embout de distribution d'oxygène sur la bombe et remplir la bombe d'O₂ (ne pas dépasser 25 atm).
26. En même temps, remplir la cuvette avec 400 mL d'eau millipore à température ambiante (attention pour **toujours** remplir avec la même quantité d'eau, utiliser une pipette ou peser l'eau à température ambiante).
27. Placer la bombe dans la cuvette. S'assurer qu'il n'y ait pas de fuite. S'il y a une fuite :
 - a. Sortir la bombe de la cuvette, ouvrir, et humidifier le joint d'étanchéité de nouveau. Changer le joint si nécessaire.
 - b. S'assurer que la valve d'échappement des gaz est bien fermée.

NOTE : NE JAMAIS FAIRE EXPLOSER UNE BOMBE QUI FUIT !!

28. Placer la cuvette dans l'appareil en alignant les encoches situées dans le fond de la cuvette (les 2 encoches vont devant). Brancher les électrodes (non polarisées : il n'y a donc pas de positif ni négatif).
29. Appuyer sur la touche **Start**, entrer le # de la bombe (**Cal ID**), **Enter**, le # de l'échantillon (**Samp ID**), **Enter** et le **poids du tissu**, **Enter**. S'il n'y a pas de spike, **Enter**. La machine est à 0 par défaut.
30. L'appareil se positionne alors sur **pré**...attente...explosion...attente...**post**. Après le dernier Bip, la machine est à post. On appuie alors sur **Done** pour mettre les résultats en mémoire. Noter la valeur obtenue sur la feuille de données et **recalculer** la valeur du contenu énergétique à partir du ΔT selon la formule (Protocole de Steeven Ouellet, UQAR, hiver 2016):

Pour le standard :

$$W = [(\text{acide benzoïque} * m \text{ pastille}) + (\text{fil} * m \text{ fil}) + \text{correction acide citrique}]/\Delta T$$

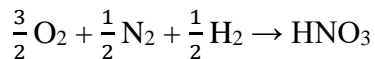
$$= [(6318,4 * m \text{ pastille}) + (1400 * m \text{ fil}) + (1,38 \text{ cal} \cdot \text{mL}^{-1} \times V_{\text{NaOH}})]/\Delta T$$

Pour l'échantillon :

$$CC = [(\Delta T * W) - \text{correction acide citrique} - (1400 * m \text{ fil})]/m \text{ échantillon}$$

31. Retirer la cuvette de l'appareil et la bombe de la cuvette. Vider le surplus d'eau sur le dessus de la bombe dans la cuvette et vider la cuvette dans l'évier.

32. Dévisser la valve d'échappement des gaz. **Les gaz doivent s'échapper lentement** (s'il y a des cendres, elles ne doivent pas tomber dans le fond de la bombe).
33. Ouvrir la bombe **sous la hotte**. Durant la combustion totale d'un échantillon, de l'acide nitrique est produit à partir de l'azote dans la bombe (Protocole de Steven Ouellet, UQAR, hiver 2016).



La chaleur produite par une solution diluée d'acide nitrique est équivalente à 1.38 cal mL⁻¹. Il faut pouvoir corriger pour cette énergie libérée et donc conserver les eaux de lavage et les titrer avec une solution de NaOH 0.1 N afin de déterminer le facteur de correction à appliquer sur le calcul final de la densité énergétique.

34. Vérifier que la combustion ait été totale (aucun résidu apparent dans la cupule).
35. Après chaque explosion, rincer soigneusement les parois et le couvercle intérieur de la bombe à l'eau millipore et récupérer ces eaux de lavage dans un bécher pour réaliser la titration avec une solution de NaOH 0,1 N pour déterminer la quantité d'acide nitrique formé. On utilise la phénolphaléine comme indicateur coloré.
36. Retirer délicatement les restes de fusible avec une pince en plastique pour ne pas en perdre et peser les restes pour déterminer la quantité de fer qui a été oxydée. La valeur ainsi obtenue est celle à entrer dans la machine pour la **correction de la FUSE** avant l'impression du rapport finale.
37. Entre chaque échantillon, rincer et essuyer soigneusement toutes les composantes (bombe, tête, cuvette).

**SI LA DIFFÉRENCE ENTRE LES DUPLICATAS D'UN ÉCHANTILLON EST SUPÉRIEURE À 3%,
EFFECTUER UN TROISIÈME COUP DE BOMBE (S'IL RESTE SUFFISAMMENT DE TISSUS...).**
[(DIFFÉRENCE ENTRE 2 DUPLICATA / MOYENNE D'ÉNERGIE) * 100]

Fermeture de l'appareil et de ses composantes

À la fin de la journée, toujours fermer la valve de la bombonne d'oxygène et peser sur **O₂ FILL** sur l'appareil. Lorsque l'oxygène à fini de s'échapper, peser sur **Reset**. Fermer l'appareil.

Message d'erreur les plus courants

1400 mysfire : Vérifier que le fusible est correctement placé et réessayer. Si le message d'erreur persiste, vérifier la conductance entre les divers éléments de la tête de bombe. Si

mauvaise conductance défaire les pièces qui causent potentiellement le problème et nettoyer ou changer selon le cas.

Peut aussi apparaître si on a oublié d'injecter de l'O₂ dans le système.

600 memory is full : Utiliser *20 pour supprimer des tests terminés (faire attention pour ne pas supprimer des tests qui non pas été notés sur les feuilles de données).