







Université du Québec  
à Rimouski

**Évaluation de la composition isotopique du carbone dans les  
otolithes comme proxy du taux métabolique de terrain chez  
l'anguille d'Amérique (*Anguilla rostrata*)**

Mémoire présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en océanographie

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

PAR

© SANTIAGO JARQUIN-CORRO

**Mars 2024**





**Composition du jury :**

**Pierre Blier, président du jury, Université du Québec à Rimouski**

**David Deslauriers, directeur de recherche, Université du Québec à Rimouski**

**Dominique Robert, codirecteur de recherche, Université du Québec à Rimouski**

**Eva Enders, examinatrice externe, Institut national de la recherche scientifique**

Dépôt initial le 10/10/2023

Dépôt final le 20/03/2024



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 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.





## **REMERCIEMENTS**

J'aimerais premièrement remercier mon directeur de recherche, David Deslauriers, pour m'avoir offert l'opportunité d'entreprendre ma maîtrise dans son laboratoire sous sa supervision. Au courant de mon parcours, il a su me transmettre son enthousiasme et son ambition ce qui m'a aidé énormément.

J'aimerais aussi remercier mon co-directeur, Dominique Robert, de m'avoir apporté une aide supplémentaire cruciale à mon parcours.

Durant ma maîtrise j'ai aussi eu l'aide de deux collaborateurs très importants. J'aimerais donc remercier Pascal Sirois et Anne-Lise Fortin, de la chaire de recherche sur les espèces aquatiques à l'Université du Québec à Chicoutimi pour leur aide indispensable avec les analyses otolithiques. Sans leurs installations et leur expertise, je n'aurais pas pu compléter mon projet.

Lors des journées de collecte d'anguilles j'ai eu l'aide de plusieurs partenaires et individus. J'aimerais remercier Christophe Loeb sack de l'aquarium du Québec, Jean-Guy Frenette et Dalie Côté-Vaillancourt du Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs, Pierre et George Lizotte de « Les trésors du fleuve » à Rivière-Ouelle ainsi que Julie Gauthier de Pêcheries Charlevoix. Leur participation et leurs installations de fascines à anguilles ont été indispensables à mon projet.

En plus de l'aide logistique, plusieurs personnes m'ont aidé avec leur support moral durant mon parcours. J'aimerais remercier mes amis, dont les membres de mon laboratoire, qui m'ont aidé en fournissant un support moral incroyable ainsi qu'en me prêtant leur bras lors de mes expériences et mes échantillonnages.

J'aimerais aussi remercier ma douce, Louise Zilber, qui a su me motiver et m'inspirer tout en veillant à mon bonheur et bien-être.

Finalement, je dois faire une mention spéciale ma famille. Si je suis à ce niveau, c'est en grande partie grâce à eux. Ils ont su me garder motivé tout au long de ma vie en insufflant

une énorme confiance en moi. Rien n'aurait été possible sans eux et je ne pourrais jamais les remercier assez.



## RÉSUMÉ

Les augmentations de température ont un impact direct sur la performance individuelle des poissons en augmentant les coûts métaboliques liés à la maintenance, et diminuant ainsi la quantité d'énergie disponible pour la reproduction et la croissance. Il est donc important de bien comprendre ces interactions de causalités afin d'élaborer des plans de gestion préventifs. Pour mesurer ces coûts métaboliques, il est préférable d'utiliser le taux métabolique de terrain (FMR), une variable considérée plus pertinente sur le plan écologique que la mesure du taux métabolique standard, car plus représentative des demandes énergétiques d'un organisme dans son milieu naturel. Cependant, la mesure directe du FMR est souvent difficile, voire impossible pour certaines espèces. Dans ce contexte, l'utilisation d'un proxy métabolique constitue une alternative prometteuse. Entre autres, la composition isotopique du carbone dans les otolithes de poissons téléostéens (valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ ) permet d'obtenir l'historique métabolique entier d'un organisme *in situ*. Bien que ce proxy ait énormément de potentiel pour les études bioénergétiques, un manque de validation expérimentale restreint son utilisation courante dans les efforts de gestion et de conservation. La présente étude vise donc à valider l'utilisation de ce proxy chez l'anguille d'Amérique (*Anguilla rostrata*), une espèce catadrome. Pour ce faire, le taux métabolique de routine (RMR) des anguilles a été mesuré par respirométrie et comparé avec les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ , ainsi qu'avec la composition isotopique de l'oxygène dans l'otolithe (valeurs  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$ ), un proxy de la température. Les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  montraient des corrélations significatives avec le RMR et la masse des individus étudiés. Ce lien est supporté par la corrélation significative observée entre les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  et  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  suggérant que la composition isotopique du carbone de l'otolithe est influencée par le métabolisme de l'organisme en réponse aux variations de température. Concernant notre deuxième proxy, la proportion de carbone métabolique dans l'otolithe ( $M_{\text{oto}}$ ), aucune corrélation significative n'a été observée avec le RMR. Cette absence de corrélation pourrait être attribuée aux incertitudes associées aux paramètres utilisés pour estimer cette variable. Toutefois, similairement aux valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ ,  $M_{\text{oto}}$  présentait une forte corrélation avec les valeurs  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$ , indiquant une robustesse potentielle pour ce proxy, notamment pour étudier l'impact des variations thermiques. Cette étude démontre donc le potentiel des valeurs isotopiques comme proxy du taux métabolique de terrain chez l'anguille d'Amérique.

**Mots clés :** taux métabolique de terrain, bioénergétique, otolithe, isotopes de carbone, taux de consommation d'oxygène, proxy, validation expérimentale, anguille d'Amérique



## ABSTRACT

Raising temperatures have a direct impact on individual fish performance by increasing basal metabolic costs, and thus decreasing the amount of energy available for reproduction and growth. It is therefore important to fully understand these causal interactions to develop preventive management plans. To measure these metabolic costs, it is preferable to use the Field Metabolic Rate (FMR), a more ecologically relevant variable than the standard metabolic rate measurement, because it is more representative of energy demands of an organism in its natural environment. However, direct measurement of FMR is often difficult or even impossible for some species. In this context, the use of a metabolic proxy is a promising alternative. Among others, the isotopic composition of carbon in the otoliths of teleost fish ( $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values) makes it possible to obtain the entire metabolic life history of an organism *in situ* because it is influenced by metabolic processes. Although this proxy has enormous potential for bioenergetic studies, the scant amount of experimental validation restricts its common use in management and conservation efforts. The present study therefore aims to validate the use of this proxy in the American Eel (*Anguilla rostrata*), a facultative catadromous species. To this end, routine metabolic rates (RMR) were measured by respirometry and compared with  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values, as well as with  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values, a temperature proxy.  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values showed significant correlations between RMR and mass of individuals. This link is also supported by the strong significant correlation observed between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  and  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values, which indicates a metabolic influence on the isotopic composition of carbon in the otolith as a function of temperature. Our second proxy, the proportion of metabolic carbon in the otolith ( $M_{\text{oto}}$ ), did not show a significant correlation with the RMRs, but this could be due to the uncertainty surrounding the parameters used to calculate this variable. However,  $M_{\text{oto}}$  showed a strong correlation with  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values, similar to  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values, indicating a potential robustness for this proxy, especially to study the impact of thermal variations. This study therefore demonstrates the potential of isotopic values as a proxy for field metabolic rate in the American Eel.

**Keywords:** field metabolic rate, bioenergetics, otoliths, carbon isotopes, oxygen consumption rate, proxy, experimental validation, American eel





## TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	viii
RÉSUMÉ.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
TABLE DES MATIÈRES.....	xv
LISTE DES TABLEAUX.....	xvii
LISTE DES FIGURES.....	xix
CHAPITRE 1 : INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	21
1.1 IMPACT DU RÉCHAUFFEMENT CLIMATIQUE SUR LE MÉTABOLISME DES ESPÈCES AQUATIQUES.....	21
1.2 TAUX METABOLIQUE.....	23
1.2.1 Taux métabolique standard (SMR) et maximal (MMR).....	24
1.2.2 Taux métabolique de terrain (FMR).....	27
1.3 LES OTOLITHES.....	28
1.4 COMPOSITION ISOTOPIQUE DU CARBONE DANS L'OTOLITHE COMME PROXY DU TAUX METABOLIQUE DE TERRAIN.....	31
1.4.1 Premières découvertes.....	31
1.4.2 Mécanisme de l'influence métabolique sur les valeurs $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ .....	32
1.4.3 Facteurs limitant l'utilisation des valeurs $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ comme proxy du FMR.....	33
1.5 L'ANGUILLE D'AMERIQUE.....	34
1.5.1 Cycle de vie.....	35
1.5.2 Menaces.....	36
1.5.3 Complexités dans la gestion de l'espèce.....	37
1.6 OBJECTIFS ET HYPOTHESES.....	38
CHAPITRE 2: EVALUATING THE POTENTIAL OF OTOLITH CARBON ISOTOPES AS FIELD METABOLIC RATE PROXIES IN THE AMERICAN EEL (ANGUILLA ROSTRATA).....	40
1.7 RESUME.....	40

1.8	EVALUATING THE POTENTIAL OF OTOLITH CARBON ISOTOPES AS FIELD METABOLIC RATE PROXIES IN THE AMERICAN EEL ( <i>ANGUILLA ROSTRATA</i> ).....	42
1.8.1	Abstract.....	42
1.8.2	Introduction.....	43
1.8.3	Materials and methods .....	47
1.8.4	Results.....	57
1.8.5	Discussion.....	62
1.8.6	Supplementary files .....	69
CHAPITRE 3 : CONCLUSION GÉNÉRALE .....		78
1.9	FACTEURS LIMITANTS .....	79
1.10	PERSPECTIVES .....	80
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....		83

## LISTE DES TABLEAUX

Table 1. Data on chemical properties and number of eels caught for each sampling site and sampling period. Pointe-au-Père is our experimental site, therefore no eels were caught in the nearby area (NA). Chemical data for this site are presented as an average ( $\pm$ S.E.) of daily measures for each one month holding phase.....	48
Table 2. Medians and interquartile ranges (IQR = $Q_1 - Q_3$ ) of experimental temperatures and salinities. n = number of eels sampled per trial; CS = Cap-Santé; SN = Saint-Nicolas; RO = Rivière-Ouelle; SI = Saint-Irénée. Temperatures and salinities with identical letters present no significant differences. ....	52
Table 3. Medians and interquartile ranges for routine metabolic rate, $\delta^{13}C_{oto}$ values, $\delta^{18}O_{oto}$ values and $M_{oto}$ for each trial group. 10 eels were sampled for trials 1 and 2. Seven eels were sampled for trial 3 and 12 were sampled for trial 4. Complete dataset and values of parameters used to calculate $M_{oto}$ are presented in the supplementary files (Table S1). ....	58
Table S1. Data used to calculate $M_{oto}$ estimations for each eel and $\delta^{18}O_{oto}$ values used as temperature proxies. $\delta^{13}C_{diet}$ was set at -18.40‰ following $\delta^{13}C$ values measured in muscle tissues from American eels sampled along the St-Lawrence River system. The isotopic fractionation factor ( $\epsilon$ ) was set at 0 following the findings of Solomon et al. (2006). Ages were estimated by counting otolith annual increments. ....	69
Table S2. Summary of respirometry criteria used in this study (Table taken from Killen & al., 2018).....	71



## LISTE DES FIGURES

- Figure 1. Effet d'une augmentation de température sur l'allocation de l'énergie assimilée aux différents processus physiologiques. (a) L'énergie assimilée est placée en réserve et ensuite allouée à la structure somatique et à la maturité sexuelle après avoir payé les coûts de maintenance. (b) Lors d'une augmentation de température, tous les coûts métaboliques augmentent et donc le poisson doit compenser avec un apport supplémentaire en nourriture. (c) Lorsque la température est trop élevée, les coûts de maintenance deviennent trop élevés ce qui réduit la quantité d'énergie allouée pour la structure et la maturité (Figure tirée d'Alfonso et al., 2021). .....23
- Figure 2. Représentation des coûts énergétiques liés aux différents états métaboliques. Le taux métabolique de terrain (FMR) représente le SMR plus les coûts associés à la vie en milieu naturel tels que l'énergie nécessaire pour les mouvements lors d'interactions prédateur proie et l'énergie nécessaire pour la digestion (ADS) (Figure tirée de Chung et al., 2019b). .....26
- Figure 3. Photo de coupe transversale d'un otolithe d'anguille. Les flèches rouges indiquent les différents cernes de croissance créés par l'alternance de zones opaques et translucides. ....29
- Figure 4. Nombre estimé de l'abondance de l'anguille d'Amérique dans le système fluvial du fleuve Saint-Laurent. L'axe des y représente le nombre estimé d'anguilles immatures ayant monté l'échelle à anguilles du barrage Moses-Saunders (aucune donnée disponible pour 1996) (COSEPAC, 2012) .....35
- Figure 5. Photo of an acrylic respirometry chamber in the ambient 300 L water bath. ....50
- Figure 6. An otolith right after drilling (left) and after the powder has been removed showing the two lines of holes drilled for each otolith (right). .....53
- Figure 7. Plots of  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values and  $M_{\text{oto}}$  as a function of routine metabolic rate (A,D), wet mass (B,E) and  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values (C,F). R represents spearman's rank correlation coefficient. Significant correlations were found for every relationship except for (D)  $M_{\text{oto}}$  and routine metabolic rate. ....59
- Figure 8. Plot comparing relationships between  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values for A) freshwater species and B) marine species. The grey band around regression lines represents the 95% confidence interval. ....61



## **CHAPITRE 1 : INTRODUCTION GÉNÉRALE**

### **1.1 IMPACT DU RÉCHAUFFEMENT CLIMATIQUE SUR LE MÉTABOLISME DES ESPÈCES AQUATIQUES**

Dû aux changements climatiques, les espèces aquatiques doivent faire face à de nombreuses modifications de conditions d'habitats, telles que des eaux plus chaudes et des fluctuations thermiques plus intenses et fréquentes (Pörtner et al., 2022). Certaines espèces peuvent déplacer leur aire de distribution vers des habitats moins impactés par ces changements tandis que d'autres, ayant une capacité migratoire limitée, doivent y faire face (Perry et al., 2005; Palacios-Abrantes et al., 2022).

Les variations de température sont particulièrement néfastes pour les espèces aquatiques, puisque la grande majorité de celles-ci sont ectothermes, c'est-à-dire qu'elles ne peuvent pas réguler leur température corporelle interne. Lorsque celle-ci fluctue en lien avec les variations thermiques externes, il y a un impact direct sur le métabolisme et le budget énergétique de l'organisme (Clarke et Johnston, 1999; Gillooly et al., 2001).

Le métabolisme énergétique représente l'ensemble des réactions biochimiques qui se produisent à l'intérieur d'un organisme et qui fournissent l'énergie nécessaire pour la maintenance et les différents processus physiologiques, tels que la maturation sexuelle et la croissance (Kooijman, 2010). Le taux métabolique (TM), soit la quantité d'énergie dépensée par unité de temps, peut servir comme indicateur des demandes énergétiques d'un organisme (Hulbert et Else, 2000). Dans la littérature, il est amplement utilisé afin d'étudier l'impact des variations thermiques sur le budget énergétique et la performance d'un organisme (Robinson et al., 1983; Claireaux et Lagardère, 1999; Mallekh et Lagardère, 2002).

Chez les espèces ectothermes, la température influence directement et indirectement les demandes énergétiques de maintenance. Directement, une augmentation de la température provoque une hausse du taux de réactions biochimiques, ce qui augmente la

demande en énergie nécessaire pour ces réactions (Gillooly et al., 2001; Steffensen, 2005). Indirectement, la température peut accroître les coûts énergétiques nécessaires à certains processus physiologiques de maintenance. Par exemple, la fluidité membranaire des cellules est étroitement liée à la température ; face à des variations thermiques, les organismes doivent alors dépenser plus d'énergie pour maintenir une fluidité membranaire optimale (Lamprey, 2020). Si les variations de température sont suffisamment importantes pour engendrer une fluidité membranaire suboptimale, le système de production d'énergie devient moins efficace. Pour une même quantité de substrat, le corps produira alors moins d'énergie, exacerbant ainsi l'augmentation des demandes énergétiques de maintenance (Little et al., 2020).

Afin de répondre à cette demande accrue, les organismes augmentent leur taux métabolique ce qui a pour effet d'accroître les demandes en nourriture, lorsque celle-ci est présente en quantités suffisantes (Figure 1). Cependant, si la disponibilité de nourriture n'est pas suffisante, la quantité d'énergie allouée pour la croissance et la maturation sexuelle sera réduite pour répondre aux coûts de maintenance somatique plus élevés (Figure 1; Alfonso et al., 2021). Par conséquent, la performance individuelle de ces deux processus physiologiques sera réduite (Azevedo et al., 1998; Lambert et Dutil, 2000). Sur l'échelle d'une population, cette réduction de performance individuelle se traduira par une réduction du taux de recrutement et de productivité, deux éléments clés pour le maintien d'une population en bonne santé (Moyano et al., 2020). Les augmentations de température peuvent également réduire la quantité d'énergie disponible pour les migrations ce qui peut diminuer le succès migratoire d'une espèce ou d'une population (Farrell, 2009; Macdonald et al., 2010). Il est donc crucial de comprendre, avec précision, comment le métabolisme des espèces aquatiques est affecté par les variations de température. Ceci dans le but de pouvoir prédire les réponses métaboliques et physiologiques des espèces aquatiques face au réchauffement climatique et mettre en œuvre des plans de conservation et de gestion plus efficaces et préventifs (Deyoung et al., 2008; Fernandes et al., 2010; Grüss et al., 2018).



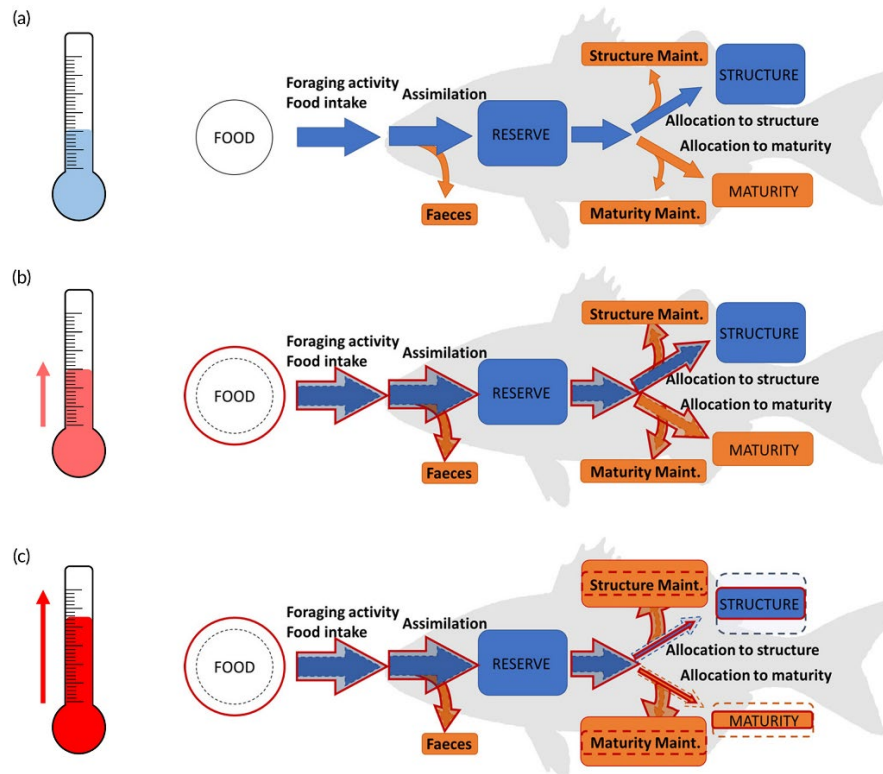


Figure 1. Effet d'une augmentation de température sur l'allocation de l'énergie assimilée aux différents processus physiologiques. (a) L'énergie assimilée est placée en réserve et ensuite allouée à la structure somatique et à la maturité sexuelle après avoir payé les coûts de maintenance. (b) Lors d'une augmentation de température, tous les coûts métaboliques augmentent et donc le poisson doit compenser avec un apport supplémentaire en nourriture. (c) Lorsque la température est trop élevée, les coûts de maintenance deviennent trop élevés ce qui réduit la quantité d'énergie allouée pour la structure et la maturité (Figure tirée d'Alfonso et al., 2021).

## 1.2 TAUX METABOLIQUE

En étudiant les variations du taux métabolique face à différents traitements de température, il est possible d'estimer certains paramètres, tels que ceux nécessaires pour développer une fonction de température-dépendance de la respiration, afin de mettre en

place des modèles bioénergétique (Zweifel et al., 2010). Ces modèles permettent d'estimer les taux de croissance et de consommation de nourriture traditionnellement difficiles à obtenir sur le terrain (Ney, 1993). Ces estimations peuvent aider à prédire l'impact des variations thermiques sur les stratégies d'utilisation d'énergie des organismes, sur la performance des processus physiologiques et, par conséquent, sur la dynamique des populations et l'état des pêcheries (Martins et al., 2011; Lehodey et al., 2013; Carozza et al., 2019; David et al., 2022).

Les méthodes les plus communes pour quantifier le taux métabolique d'un organisme sont la calorimétrie directe ou indirecte. La calorimétrie directe consiste à mesurer la quantité de chaleur, un sous-produit de la respiration oxydative, dégagée par unité de temps et de masse. Pour les espèces aquatiques, la production de chaleur est basse alors que la capacité thermique de l'eau est élevée. Par conséquent, les variations thermiques sont difficilement mesurables. Pour ces espèces, c'est plutôt la quantité d'oxygène, le substrat principal du métabolisme aérobie, consommée par unité de temps et de masse, qui permet d'estimer le taux métabolique indirectement (Nelson, 2016). C'est pourquoi cette méthode est considérée comme la calorimétrie indirecte.

La méthode la plus commune pour mesurer le taux de consommation d'oxygène chez les espèces aquatiques est la respirométrie (Chabot et al., 2016; Norin et Clark, 2016). Cette méthode consiste à insérer un organisme dans une chambre scellée et à quantifier la diminution de la concentration d'oxygène sur un temps donné.

### **1.2.1 Taux métabolique standard (SMR) et maximal (MMR)**

Généralement, le taux métabolique standard (*Standard Metabolic Rate* SMR) et le taux métabolique maximal (*Maximum Metabolic Rate* MMR) sont quantifiés dans des études visant à comprendre l'impact de différents facteurs environnementaux, tel que la température, sur la bioénergétique des organismes (Johnston et al., 1991; Gingerich et al., 2010; Norin et Clark, 2016; Norin et al., 2016). Le SMR représente le taux minimal de consommation d'oxygène nécessaire au maintien des fonctions vitales d'un organisme au

repos, immobile, à jeun et dans des conditions de température spécifiques. Dans cet état, les dépenses énergétiques dédiées uniquement à la maintenance de l'organisme constituent près de 60 % des dépenses énergétiques totales. Les autres dépenses sont réparties entre l'assimilation de l'énergie (environ 18,3 %) et la croissance (22 %) (Svendsen et al., 2017). Ainsi, le taux métabolique standard correspondrait au coût énergétique moyen pour le maintien d'un organisme au repos. En intégrant la relation entre la température et le SMR dans les modèles bioénergétiques, il devient possible de quantifier l'énergie allouée à la maintenance et celle disponible pour des processus physiologiques essentiels, tels que la croissance et la reproduction, en tenant compte de l'influence de la température. Cette approche permet de prédire les taux de croissance et le potentiel reproducteur des individus en fonction de divers scénarios climatiques.

Le MMR représente le taux de consommation d'oxygène maximal qu'un individu peut atteindre. La différence entre le SMR et le MMR correspond à l'énergie disponible pour la locomotion, la digestion, la croissance et la reproduction.

Ces taux peuvent être mesurés avec précision lors d'expériences de respirométrie en laboratoire. Cependant, il est plutôt difficile d'appliquer les découvertes découlant de ces études sur des organismes dans leur habitat naturel. En milieu naturel, plusieurs facteurs stochastiques et difficiles à reproduire en laboratoire peuvent modifier les demandes énergétiques et par conséquent, les réponses métaboliques d'un organisme face aux variations thermiques (Figure 2; Chung et al., 2019b).

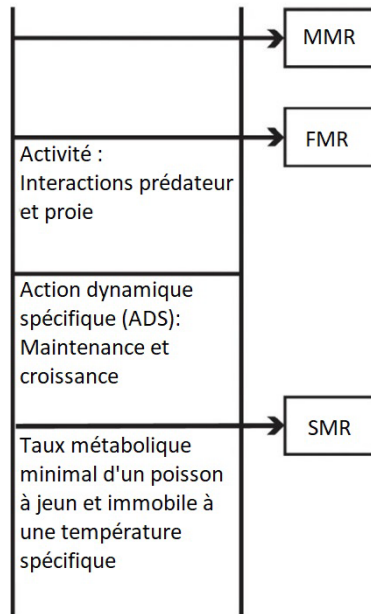


Figure 2. Représentation des coûts énergétiques liés aux différents états métaboliques. Le taux métabolique de terrain (FMR) représente le SMR plus les coûts associés à la vie en milieu naturel tels que l'énergie nécessaire pour les mouvements lors d'interactions prédateur proie et l'énergie nécessaire pour la digestion (ADS) (Figure tirée de Chung et al., 2019b).

Par exemple, après avoir consommé de la nourriture, la plupart des espèces subissent une augmentation de leur métabolisme attribuée aux coûts nécessaires pour la digestion (*Action dynamique spécifique* ADS) (Jobling, 1981; Van Leeuwen et al., 2012). Également, les interactions prédateur-proie peuvent engendrer des coûts métaboliques supplémentaires (Gochfeld, 1991; Hall et Clark, 2016).

Certaines techniques permettent de simuler l'influence de ces facteurs sur les demandes énergétiques. Par exemple, en nourrissant les individus ou en permettant un mouvement restreint il est possible de comptabiliser l'énergie nécessaire pour la digestion et la locomotion (Hettler, 1976; Chipps et al., 2000; Atkins et Benfey, 2008). Le taux métabolique d'un organisme sous ces conditions est désigné comme le taux métabolique de routine (*Routine Metabolic Rate* RMR). Cependant, il est impossible de simuler les demandes énergétiques d'un organisme *in situ* avec exactitude.

Par conséquent, les réponses métaboliques observées en laboratoire face à différents traitements, en général, ne sont pas représentatives de celles qu'on verrait chez un organisme dans son habitat naturel. De plus, les modèles bioénergétiques construits avec des données obtenues en laboratoire vont souvent surestimer ou sous-estimer les paramètres recherchés, tels que les taux de consommation de nourriture et de croissance (Boisclair et Leggett, 1989; Chipps et Wahl, 2008). Pour améliorer la précision des modèles bioénergétiques, il est suggéré de développer les modèles à partir de paramètres estimés *in situ* tel que le taux métabolique de terrain (FMR). (Dekar et al., 2010; van Poorten et Walters, 2010; Brodie et al., 2016).

### **1.2.2 Taux métabolique de terrain (FMR)**

Le taux métabolique de terrain représente l'énergie nécessaire pour la maintenance somatique et reproductrice (coûts liés au SMR), la digestion, la croissance, les mouvements spontanés et le développement des organes reproducteurs lors des périodes de reproduction pour un organisme non restreint et dans son milieu naturel (Figure 2). En intégrant l'influence de l'ensemble de ces facteurs, le FMR permet d'obtenir une image représentative des demandes énergétiques et des réponses métaboliques d'un organisme dans son milieu naturel (Treberg et al., 2016).

Cependant, il est souvent difficile, voire impossible, de mesurer le taux métabolique de terrain pour certaines espèces aquatiques ayant des histoires de vie complexes qui les rendent difficiles à observer et étudier. Certaines équipes de recherche ont réussi à effectuer des expériences de respirométrie sur le terrain (Brodeur et al., 2001; Farrell et al., 2003; Mochnacz et al., 2017; Byrnes et al., 2020). D'autres études ont plutôt opté pour l'estimation indirecte du FMR en mesurant des indicateurs d'activité métabolique tels que l'activité locomotrice et le rythme cardiaque (Briggs et Post, 1997; Brodeur et al., 2001; Cooke et al., 2004; Murchie et al., 2011; Treberg et al., 2016).

Dans tous les cas, ces méthodes restent souvent coûteuses et complexes à effectuer. De plus, elles ne donnent qu'un court aperçu de l'histoire métabolique complète d'un

individu, ce qui ne permet pas d'incorporer l'impact des variations saisonnières et des stades de vie. Ces facteurs sont importants à considérer lors des études bioénergétiques puisqu'ils influencent le SMR ainsi que la tolérance thermique des organismes aquatiques (Facey et Grossman, 1990; Chipps et al., 2000; Dahlke et al., 2020). Donc, afin d'avoir un historique représentatif des demandes énergétiques d'un individu dans son milieu naturel, de sa naissance à sa mort, il est possible d'étudier les propriétés chimiques et physiques des structures calcaires situées dans l'oreille interne de tous les poissons téléostéens, les otolithes.

### **1.3 LES OTOLITHES**

Les otolithes permettent aux poissons d'entendre, de sentir les vibrations dans l'eau et d'avoir un sens de l'équilibre pour mieux se déplacer dans leur environnement tridimensionnel (Popper et Fay, 2011). Ils sont communément utilisés dans la gestion des pêcheries puisqu'ils permettent d'obtenir de l'information sur l'âge et les taux de croissance des poissons en analysant leurs annulis de croissance qui présentent une périodicité annuelle (Figure 3; Francis et Campana, 2004).

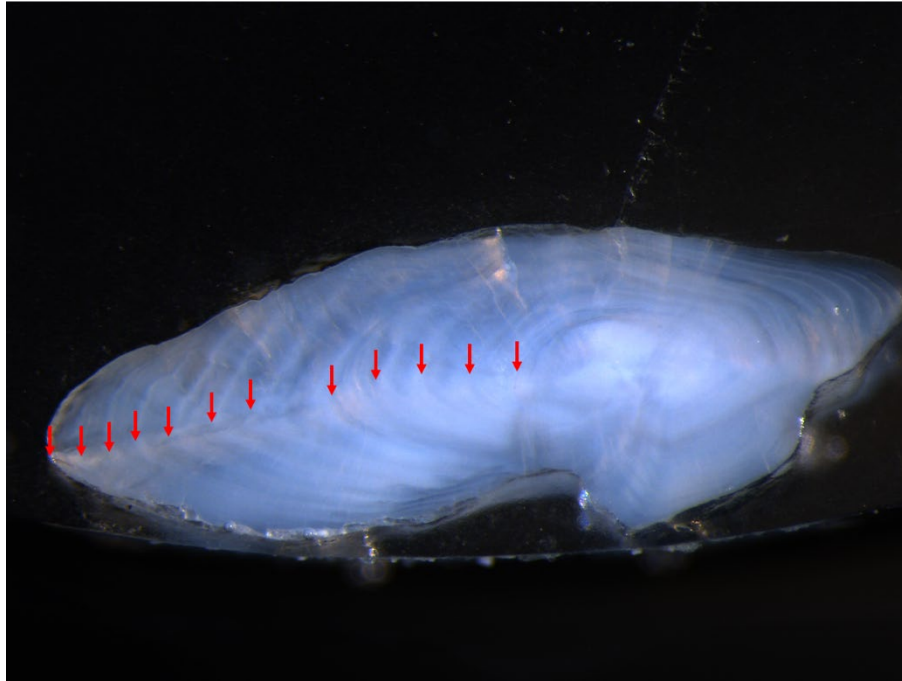


Figure 3. Photo de coupe transversale d'un otolithe d'anguille. Les flèches rouges indiquent les différents cernes de croissance créés par l'alternance de zones opaques et translucides.

Au fur et à mesure que l'otolithe se développe en minéralisant des couches successives de carbonate sur sa surface, les éléments chimiques présents dans l'eau sont incorporés directement dans sa matrice. Les éléments chimiques d'intérêt pour la recherche scientifique sont ceux qu'on retrouve à des concentrations inférieures à 100 ppm et qui sont connus sous le nom d'éléments traces (Campana, 1999).

Pour certains éléments traces, les concentrations qu'on retrouve dans l'otolithe sont proportionnelles à celles qu'on pourrait trouver dans l'eau, et puisque l'otolithe est une structure acellulaire et inerte métaboliquement, les compositions chimiques restent permanentes tout au long de la vie d'une espèce (Campana, 1999). Donc en étudiant la composition chimique de l'otolithe, il est possible de reconstruire les empreintes élémentaires d'anciens habitats. Cette information peut permettre par la suite de reconstruire l'historique d'utilisation d'habitats, par exemple en terme de salinité (Daverat

et al., 2005; Macdonald et Crook, 2010; Phillis et al., 2011), et d'en déduire les mouvements migratoires (Jessop et al., 2002, 2008; Benchetrit et al., 2017), ou d'identifier les zones de reproduction ou de nourriceries (Milton et al., 1997; Gahagan et al., 2012; Carlson et al., 2016).

En plus des concentrations d'éléments traces, les ratios isotopiques dans l'otolithe peuvent fournir de l'information sur l'histoire de vie des organismes, telles que la température vécue par l'animal (Kitagawa et al., 2013; Shirai et al., 2018; Holden et al., 2022), sa position dans la chaîne trophique (Hesslein et al., 1991; Rowell et al., 2010; Bai et al., 2022) et son FMR (Chung et al., 2019a, 2019b; Martino et al., 2020). Les isotopes sont des atomes du même élément qui possèdent le même nombre de protons, mais un nombre différent de neutrons. Ils possèdent le même numéro atomique, mais diffèrent ainsi dans leur masse (Tiwari et al., 2015).

La composition isotopique d'un matériel est analysée en comparant le ratio entre les isotopes lourds et les isotopes légers du matériel (ratio isotopique) avec celui d'un standard international à l'aide de la formule suivante :

$$(1) \quad \delta A = \left[ \left( \frac{R_A}{R_{st}} \right) - 1 \right] * 10^3$$

Où  $R_A$  et  $R_{st}$  représentent, respectivement, le ratio entre les isotopes stables plus lourds (moins abondants) et ceux plus légers (plus abondants) (par exemple :  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) pour l'échantillon en question (A) et le standard (st). La valeur obtenue (valeur  $\delta$ ) est non dimensionnelle et exprimée en parties par millier (‰). Plusieurs facteurs peuvent influencer cette valeur en créant un partitionnement relatif des isotopes légers et lourds entre deux phases en coexistence. Ce processus de partitionnement se nomme le fractionnement isotopique (Tiwari et al., 2015).

Par exemple, lors de la précipitation de matières carbonatées sur l'otolithe, les isotopes d'oxygène légers seront discriminés et, par conséquent, l'otolithe sera enrichi en



isotopes lourds et possédera une valeur isotopique ( $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$ ) plus élevée (Campana, 1999). Ce taux d'enrichissement est affecté par la température : une température plus élevée entraînera un taux d'enrichissement plus faible et une valeur  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  plus basse (Kalish, 1991b; Iacumin et al., 1992; Høie et al., 2004; Kim et al., 2007; Holden et al., 2022). Cette interaction crée une corrélation entre les valeurs  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  et la température de l'eau, ce qui permet de les utiliser comme thermomètre et de reconstruire l'histoire de vie thermique d'un organisme (Dorval et al., 2011; Godiksen et al., 2012; Minke-Martin et al., 2015; Shirai et al., 2018; Willmes et al., 2019). Cette information peut, par la suite, aider à caractériser les mouvements migratoires (Matta et al., 2013), à déterminer les origines natales d'une espèce (Schloesser et al., 2010; Hane et al., 2022) et à déterminer l'âge des poissons (Gurney et al., 2005).

#### **1.4 COMPOSITION ISOTOPIQUE DU CARBONE DANS L'OTOLITHE COMME PROXY DU TAUX METABOLIQUE DE TERRAIN**

Pour les études portant sur la bioénergétique des poissons, la composition isotopique du carbone dans l'otolithe (valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ ) peut être d'une grande utilité. Ceci est dû au fait qu'elle est influencée par les processus métaboliques d'une espèce et peut donc être potentiellement utilisée comme proxy du taux métabolique de terrain (Chung et al., 2019a, 2019b).

##### **1.4.1 Premières découvertes**

Le premier indice d'une influence métabolique sur les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  date de plus de 40 ans lorsque Mulcahy et al. (1979) ont observé un déséquilibre entre la composition isotopique du carbone dans les otolithes et dans l'eau. Cette découverte a conduit à la proposition de l'hypothèse selon laquelle un effet métabolique pourrait influencer les ratios isotopiques du carbone lors de la précipitation des carbonates biogéniques.

Depuis, plusieurs études se sont penchées sur cette hypothèse pour tenter de confirmer la relation entre les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  et le taux métabolique (Kalish, 1991a;

Iacumin et al., 1992; Schwarcz et al., 1998; Sherwood et Rose, 2003). D'autres études ont tenté d'expliquer par quel mécanisme le métabolisme influence la composition isotopique du carbone dans l'otolithe (Mulcahy et al., 1979 ; Kalish, 1991b ; Gauldie, 1996 ; Schwarcz et al., 1998 ; Høie et al., 2003 ; Dufour et al., 2007).

#### 1.4.2 Mécanisme de l'influence métabolique sur les valeurs $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$

Lorsque le taux métabolique augmente, la valeur  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  diminue (Chung et al., 2019b). Cette corrélation est due au fait que le carbone déposé dans l'otolithe provient de deux sources différentes ayant des signatures isotopiques très distinctes : (1) le carbone inorganique dissous dans l'eau ( $\text{C}_{\text{DIC}}$ ), qui est absorbé dans le sang à partir des branchies, et (2) le carbone métabolique ( $\text{C}_{\text{M}}$ ), qui est ingéré via l'alimentation, puis oxydé durant la respiration cellulaire, pour être finalement rejeté dans le sang sous forme de  $\text{CO}_2$  (Kalish, 1991a; Campana, 1999; Solomon et al., 2006).

Le carbone métabolique représente environ 10 à 40% du carbone total dans l'otolithe (Schwarcz et al., 1998). La valeur  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  peut être représentée par un modèle de mélange à deux composantes (Schwarcz et al., 1998; Solomon et al., 2006; Chung et al., 2019a) :

$$(2) \quad \delta^{13}\text{C}_{\text{oto}} = M_{\text{oto}} \times \delta^{13}\text{C}_{\text{diète}} + (1 - M_{\text{oto}}) \times \delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}} + \varepsilon_{\text{total}}$$

où  $M_{\text{oto}}$  représente la proportion de  $\text{C}_{\text{M}}$  présent dans l'otolithe et  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ ,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{diète}}$  et  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  représentent les valeurs  $\delta^{13}\text{C}$  de l'otolithe, du  $\text{C}_{\text{m}}$  et du  $\text{C}_{\text{DIC}}$  respectivement.  $\varepsilon_{\text{total}}$  représente le taux de fractionnement isotopique net total lors de l'échange de DIC entre l'eau et le sang ainsi que le sang et l'endolymphe dans lequel baigne l'otolithe. Il y a encore beaucoup d'incertitudes sur la valeur de ce paramètre (Chung et al., 2019a). Une étude a démontré que ce taux de fractionnement n'est pas significativement différent de 0‰ chez la truite arc-en-ciel (Solomon et al., 2006). D'autres ont utilisé un taux de 2 et 2.7‰ pour estimer  $M_{\text{oto}}$  mais se sont basés sur les valeurs de fractionnement entre l'eau et des carbonates inorganiques et biogéniques (Grossman et Ku, 1986; Romanek et al., 1992; Schwarcz et al.,

1998; Høie et al., 2003). Ces valeurs pourraient donc différer pour la précipitation de carbonates dans l'endolymphe.

Le  $C_M$  est particulièrement démunie en  $C^{13}$  et possède donc une valeur  $\delta^{13}C$  nettement inférieure à celle du  $C_{DIC}$  (Park et Epstein, 1960; Wong et Sackett, 1978; Descolas-Gros et Fontugne, 1990). Puisque les concentrations de  $C_{DIC}$  dans l'eau sont relativement stables, les proportions de  $C_{DIC}$  et  $C_M$  dans le sang et, par conséquent, dans l'otolithe sont majoritairement contrôlées par le taux d'oxydation du  $C_M$  qui définit le taux métabolique. Lorsque le taux d'oxydation augmente, la proportion du  $C_M$  dans le sang et dans l'otolithe ( $M_{oto}$ ) va aussi augmenter. Puisque le  $C_M$  est démunie en  $C^{13}$  (valeur  $\delta^{13}C$  basse), lorsque sa proportion augmente dans l'otolithe, ce-dernier devient également démunie en  $C^{13}$  et la valeur  $\delta^{13}C_{oto}$  globale diminue (Chung et al., 2019a). Une variation au niveau du ratio isotopique du carbone dans l'otolithe reflèterait donc une variation au niveau du taux métabolique.

Une autre preuve qui indiquerait un lien entre le métabolisme des organismes et les valeurs  $\delta^{13}C_{oto}$  est la présence d'une corrélation positive et linéaire entre les valeurs  $\delta^{13}C_{oto}$  et les valeurs de  $\delta^{18}O_{oto}$ . En effet, cette corrélation a été observée chez plusieurs espèces de poissons (Kalish, 1991b; Iacumin et al., 1992; Gauldie et al., 1994; Ashford and Jones, 2007). Elle signifie la présence d'une influence métabolique sur les valeurs  $\delta^{13}C_{oto}$  qui est dépendante de la température. Les organismes qui proviennent d'habitats froids avec des valeurs  $\delta^{18}O_{oto}$  élevées auraient un taux métabolique bas et un  $M_{oto}$  proche de 0. Le  $C^{13}$  est donc déposé sur l'otolithe près de l'équilibre avec le  $C^{13}$  dans l'eau et la valeur  $\delta^{13}C_{oto}$  sera élevée. À l'inverse, lorsque les organismes proviennent d'habitats chauds et présentent des valeurs de  $\delta^{18}O_{oto}$  plus bas, leur taux métabolique et  $M_{oto}$  sera plus élevé. Par conséquent, l'otolithe devient démunie en  $C^{13}$  et la valeur  $\delta^{13}C_{oto}$  est plus basse (Kalish, 1991a).

#### **1.4.3 Facteurs limitant l'utilisation des valeurs $\delta^{13}C_{oto}$ comme proxy du FMR**

Malgré le potentiel des valeurs  $\delta^{13}C_{oto}$  comme proxy du taux métabolique de terrain, plusieurs lacunes existent qui limitent son application sur le plan pratique. Jusqu'à présent,

seulement deux études ont visé à comparer directement les ratios isotopiques du carbone dans l'otolithe avec le taux de consommation d'oxygène (Chung et al., 2019b; Martino et al., 2020). Ces deux études ont utilisé des espèces marines ; par conséquent, il n'y a pas encore eu de tentative pour vérifier si les isotopes de carbone dans l'otolithe sont également influencés par les processus métaboliques chez les espèces d'eau douce.

Il manque donc, encore plusieurs étapes de validation afin de pouvoir lier les taux de consommation d'oxygène et les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ , pour éventuellement estimer le FMR à partir de la composition isotopique du carbone dans les otolithes. En ayant toute l'information nécessaire, les otolithes pourraient devenir un outil intéressant pour étudier les variations du métabolisme face aux variations de température. Ils permettraient ainsi de pouvoir comprendre et prédire comment les espèces réagiront face aux changements climatiques.

## 1.5 L'ANGUILLE D'AMÉRIQUE

L'anguille d'Amérique est répartie dans les eaux douces, saumâtres et marines de la côte ouest de l'Atlantique Nord, allant du Venezuela jusqu'au Groenland (Tesch, 1977; Scott et Crossman, 1985; Helfman et al., 1987). C'est l'aire de répartition la plus grande parmi toutes les espèces de poissons dans les Amériques. Historiquement, l'anguille d'Amérique représentait en moyenne plus de 50% de la biomasse totale des cours d'eau sur l'ensemble de son aire de répartition (Smith et Saunders, 1955; Busch et al., 1998). C'est pourquoi elle était l'une des espèces les plus recherchées par les peuples autochtones habitant les bassins versants du fleuve Saint-Laurent (Junker-Andersen, 1988; MacGregor et al., 2008).

Malheureusement, depuis les années 1980, il y a eu une diminution de l'abondance de l'espèce de 17 à 96% dans les bassins versants du fleuve Saint-Laurent (Figure 4; COSEPAC, 2012). Cet énorme déclin affecte les populations autochtones contemporaines qui, dans certains cas, ne peuvent plus miser sur l'anguille pour leur subsistance.

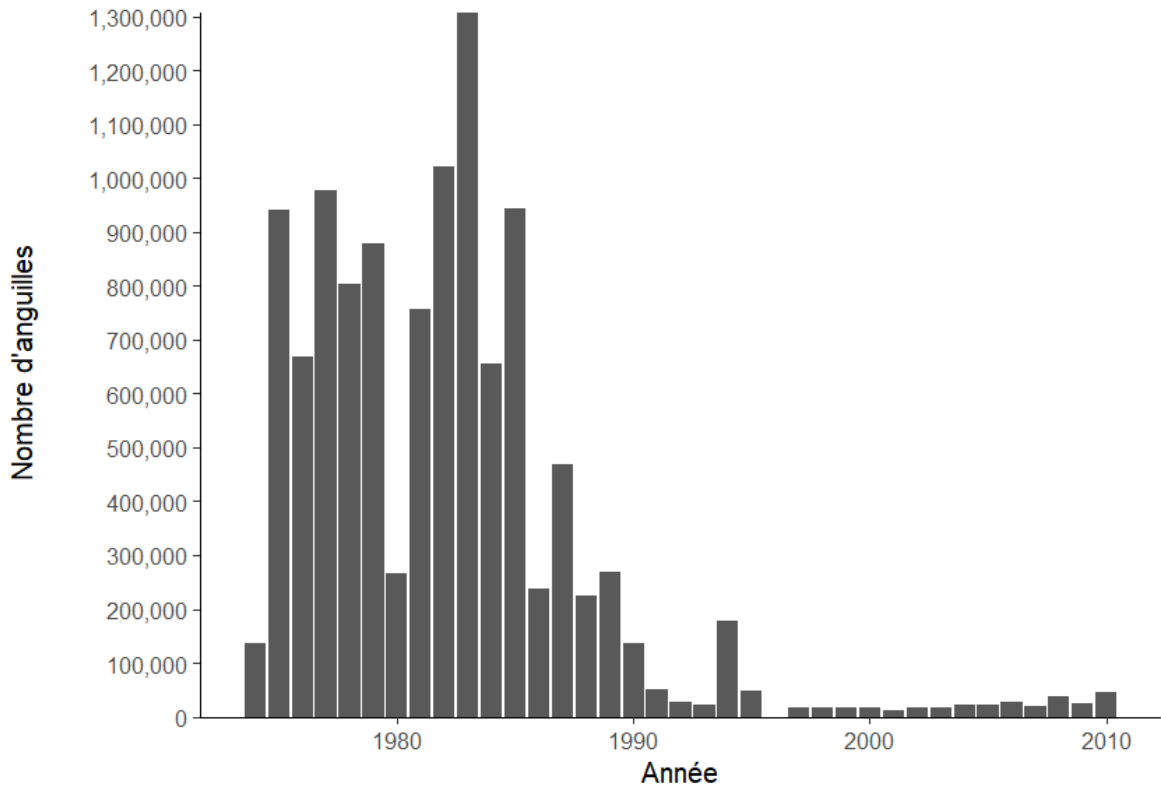


Figure 4. Nombre estimé de l’abondance de l’anguille d’Amérique dans le système fluvial du fleuve Saint-Laurent. L’axe des y représente le nombre estimé d’anguilles immatures ayant monté l’échelle à anguilles du barrage Moses-Saunders (aucune donnée disponible pour 1996) (COSEPAC, 2012)

### 1.5.1 Cycle de vie

La reproduction de l’anguille d’Amérique s’effectue dans la mer des Sargasses (Schmidt, 1925; Béguer-Pon et al., 2015; Miller et al., 2019; Wright et al., 2022). À la suite de l’éclosion, les larves d’anguille, communément appelées leptocéphales, sont dispersées de façon aléatoire sur l’ensemble de son aire de répartition à l’aide des courants océaniques. En arrivant sur les plateaux continentaux, les larves subissent une première métamorphose qui leur donne la forme anguillide typique de l’espèce et deviennent des civelles transparentes (McCleave, 1987). Les civelles commencent ensuite la montaison des cours d’eaux pour atteindre leurs habitats de résidence. Durant la montaison, les anguilles

acquièrent progressivement une pigmentation de plus en plus sombre pour devenir des anguilles jaunes. Le stade de l'anguille jaune constitue la principale phase de croissance de l'espèce. À ce stade-ci elles se nourrissent et grandissent pendant 9 à 22 ans selon le type d'habitat (Jessop, 2010). Lorsqu'elles sont prêtes, les anguilles entreprennent une migration de plusieurs milliers de km, dépendamment du lieu de départ, pour rejoindre la mer des Sargasses, leur origine natale, se reproduire et mourir (Béguer-Pon et al., 2015; Wright et al., 2022). À ce stade-ci, elles sont considérées comme étant des anguilles argentées.

Les anguilles argentées subissent de nombreuses métamorphoses pour s'adapter aux rudes conditions migratoires (Tesch, 1977; McGrath et al., 2002; Durif et al., 2005). Elles changent de couleur pour avoir un ventre plus blanchâtre ou crème, d'où le terme « argentée », le tégument (peau) s'épaissit (Tesch, 1977), les gonades se développent suite à une augmentation des hormones gonadotrophines (Durif et al., 2005), le système digestif dégénère, les nageoires pectorales grandissent pour mieux nager (Durif, 2003), le diamètre des yeux augmente pour mieux voir dans les eaux profondes (McGrath et al., 2002) et les réserves de lipides somatiques augmentent (Tremblay, 2009). En raison du coût énergétique élevé de cette migration, tout changement au budget énergétique entraîné par les changements climatiques peut avoir un impact important sur le succès migratoire des anguilles.

Le cycle de vie de l'anguille d'Amérique est typique de celui d'une espèce panmictique, c'est-à-dire, une espèce composée d'une seule population génétique. Lors de la reproduction, le brassage génétique peut s'effectuer entre des individus provenant de l'ensemble de l'aire de répartition. Par conséquent, la différenciation génétique entre les sous-populations géographiques n'est pas significative (Côté et al., 2013; Pujolar et al., 2022).

### **1.5.2 Menaces**

La pêche commerciale et le passage dans les barrages hydroélectriques sont considérés comme les deux causes principales de mortalité responsable du déclin de

l'abondance de l'anguille dans les bassins versants du fleuve Saint-Laurent (de Lafontaine et al., 2009). Les pêcheries exercent une pression sur la population d'anguilles depuis longtemps. Cependant, l'installation de nombreux barrages hydroélectriques est vue comme l'élément déclencheur du déclin puisqu'ils impactent à la fois les anguilles jaunes en montaison et les anguilles argentées en dévalaison (Verreault et al., 2004 ; MacGregor et al., 2008; de Lafontaine et al., 2009).

### **1.5.3 Complexités dans la gestion de l'espèce**

La vulnérabilité de l'anguille d'Amérique est accentuée par une gestion complexe découlant du fait que la seule population génétique de l'espèce est sous la juridiction de nombreux pays, soit tous les pays inclus dans son aire de répartition allant de l'Amérique du Nord jusqu'à l'Amérique du Sud. Seulement en Amérique du Nord, l'espèce est gérée par le gouvernement des États-Unis et de 19 de ses états, ainsi que celui du Canada et de 6 de ses provinces (MacGregor et al., 2008).

Jusqu'à présent, bien qu'il y ait eu quelques initiatives de gestion conjointe entre le Canada et les États-Unis, les autres pays compris dans l'aire de répartition de l'espèce choisissent plutôt d'agir sur le plan local. Couplé à cela, l'anguille d'Amérique est une espèce difficile à étudier. Durant ses périodes migratoires, elle peut parfois se trouver à plus de mille mètres de profondeur dans la colonne d'eau de l'Océan Atlantique (Aarestrup et al., 2009 ; Béguer-Pon et al., 2015 ; Wysujack et al., 2015).

Par conséquent, il est difficile d'obtenir des données *in situ* pour étudier les stratégies d'utilisation d'énergie de l'anguille et développer des modèles bioénergétiques précis. Ces modèles permettraient aux chercheurs de prédire, entre autres, les taux de succès migratoire face à différents scénarios de changements climatiques en calculant l'énergie disponible pour la migration (Macdonald et al., 2010). Les prédictions découlant de ces modèles pourraient donc être utilisées pour prendre des décisions concernant la gestion et l'exploitation de l'espèce, telles que la détermination des quotas de pêche, tout en prenant en compte l'impact des changements climatiques sur l'état des populations (Young et al.,

2006 ; Fenkes et al., 2016). Cela permettrait donc une gestion plus préventive et efficace de l'espèce.

## 1.6 OBJECTIFS ET HYPOTHESES

L'objectif de cette étude est de valider l'utilisation des valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  comme proxy du taux métabolique de terrain chez l'anguille d'Amérique en tentant de confirmer la présence d'une influence métabolique sur les isotopes de carbone dans l'otolithe. Pour ce faire, la composition isotopique du carbone dans les otolithes d'anguilles ( $M_{\text{oto}}$  et  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ ) a été comparée avec les taux métaboliques de routine mesurés par respirométrie. Les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  ont également été comparées avec les valeurs  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  comme proxy de la température pour valider l'effet de la température sur les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  par son influence sur le taux métabolique de l'organisme. Les objectifs et hypothèses spécifiques à l'étude sont donc les suivants :

**Objectif général :** Confirmer l'utilisation potentielle des valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  comme proxy du taux métabolique de terrain chez l'anguille d'Amérique, en validant l'influence des processus métaboliques sur la composition isotopique du carbone dans l'otolithe.

**Objectif spécifique 1 :** Comparer les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  et  $M_{\text{oto}}$  avec les taux métaboliques de routine, mesurés par respirométrie, chez l'anguille d'Amérique (*Anguilla rostrata*) pour confirmer, un lien entre la composition isotopique du carbone et le taux de consommation d'oxygène. **Hypothèse 1 :** une corrélation significative sera observée entre les taux métaboliques de routines et les proxys métaboliques ( $M_{\text{oto}}$  et  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ ). Les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  plus basses et les valeurs de  $M_{\text{oto}}$  plus élevées seront liées avec des taux métaboliques de routine plus élevés.

**Objectif spécifique 2 :** comparer les valeurs  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  avec les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  et  $M_{\text{oto}}$  chez l'anguille d'Amérique (*Anguilla rostrata*) afin de valider la présence d'une corrélation entre les proxys métaboliques et la température ( $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$ ). **Hypothèse 2 :** les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$



auront une corrélation positive avec les valeurs  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$ , tandis que les valeurs de  $M_{\text{oto}}$  auront une corrélation négative avec les valeurs  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$ .

Les découvertes découlant de cette étude pourraient aider à avancer les connaissances nécessaires pour l'utilisation des valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  comme proxy du taux métabolique chez l'anguille d'Amérique et chez les espèces aquatiques en général.

Un tel proxy pourrait notamment simplifier l'acquisition de données bioénergétiques *in situ* nécessaires pour le développement de modèles bioénergétiques chez cette espèce, des modèles communément utilisés dans la gestion des pêcheries (Ney, 1993; Negus, 1995; Meka and Margraf, 2007).

## CHAPITRE 2: EVALUATING THE POTENTIAL OF OTOLITH CARBON ISOTOPES AS FIELD METABOLIC RATE PROXIES IN THE AMERICAN EEL (*ANGUILLA ROSTRATA*)

### 1.7 RESUME

La composition isotopique du carbone dans les otolithes de poisson (valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ ) présente un grand potentiel en tant que proxy du taux métabolique de terrain (FMR), en raison de leur corrélation avec les taux de consommation d'oxygène. Un tel proxy serait d'un grand intérêt pour les études bioénergétiques visant à déterminer l'effet des variations thermiques sur les coûts métaboliques chez les poissons en milieu naturel. Malgré l'intérêt considérable pour ce proxy et son grand potentiel pour la recherche bioénergétique, seules deux études ont tenté de valider ce proxy expérimentalement et les deux ont utilisé des espèces marines. Ainsi, afin de combler le manque de connaissances sur l'utilisation potentielle de ce proxy avec les espèces d'eau douce, cette étude vise à valider les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  comme proxy du FMR chez les anguilles d'Amérique capturées dans l'estuaire du Saint-Laurent. Pour atteindre cet objectif, nous avons comparé deux proxys métaboliques de l'otolithe, les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  et la proportion estimée de carbone d'origine métabolique dans l'otolithe ( $M_{\text{oto}}$ ) avec les taux métaboliques de routine (RMR) mesurés par respirométrie ainsi que les valeurs  $\delta^{18}\text{O}$  de l'otolithe ( $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$ ), un proxy de température. Les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  ont présenté des corrélations significatives avec le RMR et la masse des anguilles, ce qui corrobore l'hypothèse métabolique et est cohérent avec les résultats d'études antérieures similaires. Ces résultats confirment que les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  sont affectées par les processus métaboliques chez l'anguille d'Amérique. Aucune corrélation significative n'a été observée entre RMR et  $M_{\text{oto}}$ , probablement en raison des incertitudes entourant les paramètres utilisés pour calculer  $M_{\text{oto}}$ . Cependant,  $M_{\text{oto}}$  et  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  ont présenté de fortes corrélations significatives avec les valeurs  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$ . Ainsi, cela ajoute un appui supplémentaire à l'utilisation potentielle des valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  comme proxy du FMR et indique une certaine robustesse aux estimations de  $M_{\text{oto}}$ , en particulier lors de l'étude des variations métaboliques induites par la température. Cette étude atteste le potentiel d'utilisation des valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  comme proxy du FMR chez l'anguille d'Amérique, en validant expérimentalement la relation entre les taux de consommation d'oxygène et les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ .

Cet article, intitulé « *Evaluating the Potential of Otolith Carbon Isotopes as Field Metabolic Rate Proxies* » sera soumis pour publication dans la revue « *Canadian Journal of Zoology* ». En tant qu'auteur principal de cet article, j'ai moi-même effectué l'ensemble des étapes de recherche nécessaires au développement du projet. J'ai également peaufiné la question de recherche ; déterminé les objectifs spécifiques au projet ; élaboré les protocoles de recherche et construit le plan expérimental. J'ai également exécuté toutes les manipulations en laboratoire ; les analyses statistiques et procédé à l'interprétation des résultats.

Mes collègues de laboratoire et de mon directeur de recherche, David Deslauriers, ont apporté leur assistance lors des analyses de respirométrie. Pascal Sirois a fourni les ressources, les connaissances et le matériel nécessaire à la préparation des otolithes. Finalement, ce manuscrit a été révisé et corrigé par David Deslauriers ainsi que par mon co-directeur de recherche, Dominique Robert.

## 1.8 EVALUATING THE POTENTIAL OF OTOLITH CARBON ISOTOPES AS FIELD METABOLIC RATE PROXIES IN THE AMERICAN EEL (*ANGUILLA ROSTRATA*)

Santiago Jarquin-Corro<sup>1</sup>, Pascal Sirois<sup>2</sup>, Dominique Robert<sup>1</sup>, David Deslauriers<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut des Sciences de la Mer de Rimouski, Université du Québec à Rimouski, Rimouski, QC, Canada

<sup>2</sup>Département des sciences fondamentales, Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi, QC, Canada

### 1.8.1 Abstract

The stable carbon isotope composition of fish otoliths ( $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values) shows great potential as a proxy for field metabolic rate (FMR) due to its correlation with oxygen consumption rates. Such a proxy would be of great interest for bioenergetic studies aiming to understand the effect of thermal variations on metabolic costs in free-ranging fish. Despite the interest in this proxy and its great potential for bioenergetics research, only two studies have tried validating it experimentally both using marine species. Therefore, to fill the knowledge gap on the potential use of this proxy with freshwater species, this study aimed at validating  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values as a proxy for FMR in American eels (*Anguilla rostrata*) captured in the St.-Lawrence Estuary. To achieve this objective, we compared two otolith metabolic proxies,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values and the estimated proportion of metabolically derived carbon in the otolith ( $M_{\text{oto}}$ ) with Routine Metabolic Rates (RMR) measured via respirometry as well as otolith  $\delta^{18}\text{O}$  values ( $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$ ), a temperature proxy.  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values presented significant correlations with RMR and fish mass that were consistent with metabolic hypothesis and in agreement with similar studies. These results confirm that  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values are affected by metabolic processes in the American eel and could eventually be used as FMR proxies. No significant correlation was observed between RMR and  $M_{\text{oto}}$ , most likely due to uncertainties surrounding the parameters used to calculate  $M_{\text{oto}}$ . However,  $M_{\text{oto}}$  and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values presented strong significant correlations with  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values. This study confirms the potential use of  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values as FMR proxies in the American eel, by experimentally validating the relationship between oxygen consumption rates and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values.

**Keywords:** field metabolic rate, bioenergetics, otolith proxy, carbon isotope, oxygen consumption, oxygen isotope, American eel

### 1.8.2 Introduction

Metabolic rates represent the rate of energy utilization, transformation, and excretion in an organism (Brown et al., 2004). They are commonly measured to estimate the effect of climate change on physiological parameters in ectotherms, such as fish species, because they are directly impacted by temperature. Temperature variations affect the speed of biochemical reactions, which creates variations in metabolic costs and metabolic rates (Gillooly et al., 2001). These variations can cause a reduction or an increase in the amount of energy available for biological functions such as reproduction and somatic growth (Alfonso et al., 2021). These two factors have a direct impact on the resilience of populations facing climate change. Therefore, understanding how metabolic rates are affected by temperature changes can help with predicting potential reproductive and growth responses to different climate change scenarios in fish (Harris et al., 2006; Le Bris et al., 2015; Tanner et al., 2019). These predictions can be useful when trying to understand the impact of climate change on fisheries catch potential and the potential socio-economic consequences (Cheung et al., 2008).

Most bioenergetic studies use controlled lab experiments to quantify the standard metabolic rate (SMR), the minimum rate needed to sustain life, and observe its response to different temperature treatments. However, it is often difficult to extend physiological and metabolic predictions based on these studies to organisms in their natural habitat. Under natural conditions, different behavioral and physiological functions can exert additional energy demands which can then influence metabolic response to temperature change. These functions include specific dynamic action (SDA, post-prandial increase in metabolism), locomotor activity energy demands (e.g., migration, predator-prey interactions, foraging, etc.) and in some cases reproductive costs (Jobling, 1981; Gochfeld, 1991; Van Leeuwen et al., 2012; Hall and Clark, 2016). Some studies have tried to estimate SDA and locomotor energy demands by feeding their organisms and/or allowing some movement (Hettler, 1976; Chipps et al., 2000; Atkins and Benfey, 2008). In these cases, the metabolic state would be referred to as Routine Metabolic Rate (RMR) and is closer to the metabolic state

of a free ranging fish than SMR. However, in a controlled environment, it is nearly impossible to accurately reproduce the energetic demand that is representative of a fish *in situ*.

The use of field metabolic rates (FMR) in bioenergetic studies offers a solution to this problem. FMR represents the metabolic rate of an organism *in situ*. Methods such as heart rate monitoring and accelerometry exist to quantify FMR indirectly (Green, 2011; Murchie et al., 2011; Payne et al., 2011; Malchaire et al., 2017). However, these methods are often time consuming and technically difficult to implement in the field. They are also limited because they can only produce a snapshot in time of an organism's metabolic state (Treberg et al., 2016).

To obtain the whole metabolic history of free-ranging fish, the isotopic composition of carbon in the otolith (i.e., ear stones) can be of great use. Otoliths are calcified structures in the inner ear of all teleost fish. They have commonly been used to age fish and obtain information on habitat chemical fingerprints considering that chemical properties of these structures are often representative of chemical properties in surrounding water (Campana, 1999). The stable carbon isotope compositions of fish otoliths ( $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values) have also been shown to be modulated by metabolic processes and are therefore a promising proxy for estimating FMR throughout an individual's life (Chung et al., 2019a, 2019b). Given that otoliths are acellular, chemical signatures remain permanent after deposition (Payan et al., 2004). Therefore,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values can provide FMR estimates at any given period in an organism's life history. This relationship is due to the mechanisms of carbon deposition in the otolith and the isotopic ratios of two main carbon sources.

Carbon deposited on the otolith originates from two sources: (1) Dissolved inorganic carbon (DIC) in water, which is assimilated through the gills and (2) Metabolic carbon from ingested food ( $C_M$ ), which has a significantly lower  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  value and is oxidized and released into the blood (Park and Epstein, 1960; Kalish, 1991a; Solomon et al., 2006; Tohse and Mugiya, 2008). Therefore, the global  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  value in the otolith is a massed average of  $\delta^{13}\text{C}$  values from both sources. Because DIC is relatively stable in water and

consequently in blood compared to  $C_M$ , variations in  $\delta^{13}C_{oto}$  values mostly reflect variations in the relative proportion of  $C_M$  deposited on the otolith. Higher respiration rates raise the concentration of  $C_M$  in the blood and thus, the proportion of  $C_M$  in the otolith ( $M_{oto}$ ). Consequently, otolith carbonate becomes depleted in  $C^{13}$  and  $\delta^{13}C_{oto}$  values drop. Therefore, shifts in  $\delta^{13}C_{oto}$  values reflect shifts in oxidation rates, which represent the metabolic rate that can be estimated by calculating  $M_{oto}$ . This mechanism produces a negative logarithmic relationship between metabolic rates and  $\delta^{13}C_{oto}$  values (Martino et al., 2020).

Interestingly, in many species,  $\delta^{13}C_{oto}$  values have also been shown to correlate with  $\delta^{18}O$  otolith values ( $\delta^{18}O_{oto}$  values) which can serve as a temperature proxy (Kalish, 1991a; Iacumin et al., 1992; Gauldie et al., 1994; Ashford and Jones, 2007; Dorval et al., 2011; Godiksen et al., 2012; Minke-Martin et al., 2015; Willmes et al., 2019). This correlation is likely due to the effect of temperature on metabolic rate. A shift in temperature and therefore, a shift in  $\delta^{18}O_{oto}$  values, would induce a shift in metabolic rates and, consequently, in  $\delta^{13}C_{oto}$  values. Thus, using these two isotopes in conjunction could allow assessing the effect of temperature on FMR while including the effect of stochastic environmental variables. Although the correlation between  $\delta^{13}C_{oto}$  values and metabolic rate has been observed and confirmed in many studies and although we have a theoretical understanding of the mechanism behind this correlation, only two studies have tried to compare oxygen consumption rates, an estimate of metabolic rate, with otolith carbon isotopic compositions (Chung et al., 2019b; Martino et al., 2020). Additionally, both studies targeted marine species and there is no information on the validity of this relationship for freshwater species, nor for catadromous species such as the American eel (*Anguilla rostrata*).

Due to their lifecycle, American eels traverse various habitats with vastly different salinities and temperatures over the course of their life. Larvae of the American eel hatch in the Sargasso Sea, which serves as the mating ground for the species. Following hatching, these larvae are dispersed throughout the species' extensive distribution range, which spans

from northern Brazil to Québec and Greenland. Upon reaching the continental shelves, larvae undergo a transformation into juvenile eels, commonly referred to as elvers. Subsequently, they initiate their upstream migration to various freshwater habitats. Along the way, the pigmentation process completes itself and the eels become known as yellow eels. The eels spend between 9 to 22 years in these habitats feeding and growing until they reach maturity. Upon reaching maturity, American eels commence their return journey to the Sargasso Sea to reproduce.

This migration presents several energy constraints that can influence the energy available for reproductive processes and consequently, the probability of success. Firstly, eels cease feeding and rely primarily on their fat reserves for energy. Additionally, a considerable portion of their energy is allocated to locomotion, with some eels traversing distances exceeding 6000 kilometers to reach the Sargasso Sea. Furthermore, eels experience temperature variations of more than 15 degrees due to diel vertical migrations, which can further impact their energy reserves (Aarestrup et al., 2009; Béguer-Pon et al., 2015 ; Wysujack et al., 2015). Consequently, information on an eel's energy balance during migratory periods is crucial in understanding how environmental factors can affect reproductive success. However, migrating larvae and adults can generally be distributed over an area of more than one million square kilometers of Atlantic Ocean and at depths of more than 1000 meters (Schoth and Tesch, 1982; Béguer-Pon et al., 2015; Wysujack et al., 2015; Miller et al., 2019). This constrains the ability of researchers to obtain precise measurements of FMR in migrating individuals and highlights the importance of metabolic proxies.

The goal of this study is thus to evaluate the potential of  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values as FMR proxies for the American eel by testing the hypothesized correlation between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values and routine metabolic rates (RMR). To further validate this relationship, we compared  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values as an FMR proxy with  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values as a temperature proxy. This was done to determine if the relationship between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values and temperature is in accordance with the relationship between metabolic rate and temperature. Findings from this study will



look to offer further validation towards the potential use of  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  and  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values as proxies for FMR and temperature in bioenergetic studies. It would be the first to do so for a catadromous species.

### 1.8.3 Materials and methods

#### 1.8.3.1 Sampling and acclimation period

Forty American eels were sampled along the St. Lawrence River, QC, at four different sites over the course of two years (2020-2021). Two sites were located upstream at Cap-Santé (CS) and Saint-Nicolas (SN) whereas the other two were downstream at Rivière-Ouelle (RO) and Saint-Irénée (SI). Chemical and physical properties differed between both regions. Water temperatures were more than 10 °C warmer upstream, and salinity was much lower (<1 ppm vs 27 ppm) (Table 1). These sites were chosen because of the presence of the remaining few eel fyke nets installed along the St. Lawrence River for commercial and monitoring purposes. Because there was a large distance between our upstream and downstream sites, there was a delay in the arrival and capture of migrating eels. Therefore, each year, upstream sites were sampled in September and downstream sites in October.

Silver eels (American eels in their adult migratory phase) were randomly selected from fyke nets, placed into large, aerated coolers (90 L), and transported to the *Institut des sciences de la mer's* aquaculture station at Pointe-au-Père, Rimouski, Québec. Upon arrival, eels were placed in 300 L aerated holding tanks with a flow-through water system sourced directly from the St. Lawrence Estuary. Temperature and salinity therefore fluctuated with ambient conditions between 7.1-11.3 °C and 25.6-28.76 ppt, respectively, during the acclimation and experimental periods. Eels were kept in these tanks over a one-month acclimation period prior to subsequent respirometry experiments and tissue sampling. Eels were not fed during this time, as they were assumed to be migrating towards the Sargasso Sea to reproduce and therefore did not need to actively feed.

Table 1. Data on chemical properties and number of eels caught for each sampling site and sampling period. Pointe-au-Père is our experimental site, therefore no eels were caught in the nearby area (NA). Chemical data for this site are presented as an average ( $\pm$ S.E.) of daily measures for each one month holding phase.

Site	Date	Temperature (°C)	Salinity	Oxygen saturation (%)	N
Cap-Santé	14/09/20	17.37	0.09	127.90	5
46°40'41.4"N 71°48'34.1"W	20/09/21	19.90	0.12	115.50	2
Saint-Nicolas	14/09/20	17.00	0.13	107.00	5
46°44'28.6"N 71°17'42.6"W	20/09/21	19.90	0.13	102.60	5
Rivière-Ouelle	20/10/20	7.50	17.45	110.20	5
47°25'48.1"N 70°03'32.1"W	25/10/21	6.90	17.13	103.20	10
Saint-Irénée	20/10/20	5.70	22.36	95.00	5
47°30'47.4"N 70°12'30.6"W	25/10/21	5.50	22.27	99.00	3
	14/09/20	10.01 $\pm$ 0.42	25.98 $\pm$ 0.35	112.86 $\pm$ 2.06	NA
Pointe-au-père	20/10/20	8.24 $\pm$ 0.69	26.98 $\pm$ 0.87	109.82 $\pm$ 6.26	NA
48°30'52.4"N 68°28'06.9"W	20/09/21	10.56 $\pm$ 0.46	27.66 $\pm$ 0.53	97.79 $\pm$ 3.71	NA
	25/10/21	8.99 $\pm$ 0.77	26.92 $\pm$ 0.43	91.28 $\pm$ 6.90	NA

### 1.8.3.2 Water samples for DIC, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ analyses

DIC water sampling was done following the National Oceanic and Atmospheric Administration's (NOAA) Inorganic carbon sampling protocol ([https://www.pmel.noaa.gov/co2/files/dic\\_sample\\_technique\\_revised\\_5-17-10.pdf](https://www.pmel.noaa.gov/co2/files/dic_sample_technique_revised_5-17-10.pdf)). At each eel capture site, water samples were taken with 20 mL glass vials with crimp tops (ThermoFisher Scientific, Massachusetts, United States). Samples were taken no more than 10 m from the fyke nets where water was at least 0.5 m deep. Glass vials were then stored in a closed box and transported by vehicle back to the laboratory. Upon arrival, the water samples were fixed by adding 100  $\mu\text{L}$  of a saturated mercuric chloride solution. This preservation method eliminates microscopic organisms in the water that can affect DIC concentrations and  $\delta^{13}\text{C}$  values. Vials were then stored at 4 °C in the dark awaiting further analysis.

### 1.8.3.3 Respirometry experiments

An intermittent flow respirometry system was used to determine routine metabolic rate by quantifying oxygen consumption of eels that were allowed to move within the respirometry chambers. The acrylic chambers used were produced by Loligo® Systems and had an inner diameter of 24 cm and a length of 100 cm for a total volume of 45.391 L, including tubing from the mixing circuit. The respirometry system was placed in a large, aerated 300 L tank which was equipped with the same flow-through system as the holding tanks.

Measurement cycles were composed of two phases. The first phase consisted of flushing out oxygen-depleted water from the chamber and replacing it with oxygenated water from the aerated holding tank. This phase used a pump (Smartpond) with a 3028  $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$  flushing rate and lasted 5 min allowing for the water in the chamber to be replaced five times during each cycle. Water was expelled from the system through a tygon tube, which was always kept above the water level to ensure that water from the holding

tank did not penetrate the chamber and impact oxygen concentrations. The second phase consisted of logging oxygen saturation every second for 30 min, with a flow-through oxygen mini sensor (Flow-through oxygen cell, Presens Germany) incorporated into the mixing circuit. An optical fiber (Fiber cable, Presens, Germany) was used to relay light information from the sensor spot to the oxygen meter (Wiltrox 4, Loligo System, Viborg, Denmark). During this phase, a 600 L·h<sup>-1</sup> pump (Eheim universal 600, Eheim, Deizisau, Germany) ensured proper mixing of the water in the chamber allowing for precise measurements. Switches between each phase were managed by an aquarium pump controller (EHEIM streamcontrol, Eheim, Deizisau, Germany). Oxygen sensors were calibrated before starting respirometry experiments using a 2% sodium sulfate (Na<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S, Fisher Scientific, Massachusetts, United-States) solution dissolved in distilled water at 17 °C to obtain a 0 % oxygen saturation solution for the 0-calibration point. For the 100 % oxygen saturation point, we aerated 1 L of water collected from the respirometry bath (27 ppt ; 7-10 °C), for 15 min to obtain a 100 % saturated solution.



Figure 5. Photo of an acrylic respirometry chamber in the ambient 300 L water bath.

For each day during respirometry trials, one eel was randomly sampled with a dip net from each holding tank for a total of two eels per day. During the first year, eels were then directly introduced into the respirometry chambers, which were in experimental tanks located directly below our holding tanks. During the second year, the holding tanks were located outdoors, therefore, an alternate transportation method was used, which consisted of placing sampled eels into a 120 L cylindrical container filled with water and transported over the distance of 150 m before being placed into the respirometry chamber. Before sealing the respirometry chamber containing an eel, a flush cycle was started to remove any air bubble. This marked the start of the 24-h respirometry period.

Background respiration was measured by running the respirometry system for at least 1 cycle before introducing the fish into the chamber as well as after its removal. Eel respiration rates were then corrected by subtracting the background respiration rate, which was linearly interpolated over the duration of the trial, to the eel's final respiration rate. Data were logged using an automated intermittent respirometry software (Autorep™, Loligo Systems, Viborg, Denmark).

Following the 24-h period, eels were removed from the respirometry chambers for further morphological measurements and tissue sampling. In total, the oxygen consumption rate of 39 eels was measured throughout four respirometry trials spanning 15 non-consecutive days over two years (Table 2). A table summarizing our experimental respirometry parameters is included in the supplementary files as suggested by Killen et al. (2021).

Table 2. Medians and interquartile ranges (IQR =  $Q_1 - Q_3$ ) of experimental temperatures and salinities. n = number of eels sampled per trial; CS = Cap-Santé; SN = Saint-Nicolas; RO = Rivière-Ouelle; SI = Saint-Irénée. Temperatures and salinities with identical letters present no significant differences.

Trial	Start date	End date	n	Temperature (°C)	Salinity (ppt)	Sites
1	10/11/2020	10/15/2020	10	<sup>A</sup> 9.59 (IQR = 9.51 - 9.78)	<sup>A</sup> 27.50 (IQR = 27.40 - 27.50)	CS-SN
2	11/16/2020	11/20/2020	10	<sup>B</sup> 6.78 (IQR = 6.73 - 6.92)	<sup>B</sup> 25.80 (IQR = 25.80 - 25.90)	RO-SI
3	10/19/2021	10/22/2021	8	<sup>A</sup> 10.10 (IQR = 10.00 - 10.20)	<sup>C</sup> 26.70 (IQR = 26.70 - 26.90)	CS-SN
4	12/1/2021	12/6/2021	12	<sup>C</sup> 6.32 (IQR = 6.20 - 6.45)	<sup>B</sup> 25.70 (IQR = 25.60 - 25.80)	RO-SI

#### 1.8.3.4 Tissue sampling

Following the respirometry trials, eels were anesthetized in a tricaine methane sulfonate bath ( $0.16 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{NO}_5\text{S}$ , Fisher Scientific, Massachusetts, United-States) after which total length (0.5 mm) and mass (0.01 kg) were measured. Following this, eels were sacrificed through cervical dislocation. Sagittal otoliths were then extracted with plastic tweezers, rinsed in distilled water, and air dried for 24 hours before storing them in 1 mL microcentrifuge tubes for further analysis.

#### 1.8.3.5 Carbonate sample preparations for $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ analysis.

Otolith samples were prepared for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  analyses in the *Laboratoire de sclérochronologie des poissons* at Université du Québec à Chicoutimi (UQAC). Otoliths were first washed with ultrapure water and a brush to remove any organic debris on the surface. Once dried, right sagittal otoliths were fixed with thermoplastic glue (Crystalbond™ 509, Aremco products inc., New-York, United States) to a petrographic microscope slide (Ward's® Petrographic Microscope Slides, VWR international, Pennsylvania, United-States) with the sulcus acusticus facing downwards to ensure stability during drilling. We used one slide per otolith to avoid cross contamination. Drilling was performed with a computer-controlled micromill (New Wave Research, California, United-States) and a 300  $\mu\text{m}$  wide drill bit. A minimum of 150  $\mu\text{g}$  of carbonate powder was needed for further isotopic analyses at the GEOTOP, Light stable isotope geochemistry laboratory in Montreal, Canada. After preliminary tests, it was determined that two lines of 10 to 15 holes drilled at the margin of each otolith allowed for a minimum of 150  $\mu\text{g}$  of powder to be collected for every otolith (Figure 6).

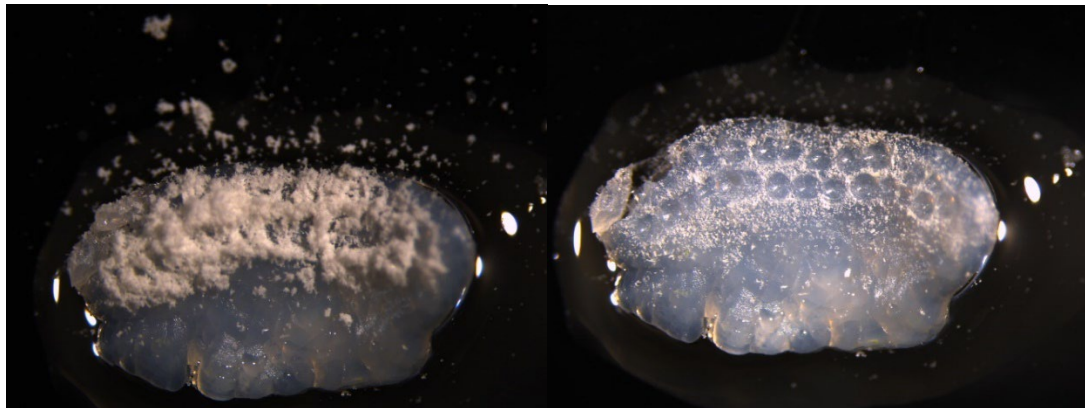


Figure 6. An otolith right after drilling (left) and after the powder has been removed showing the two lines of holes drilled for each otolith (right).

The outer and inner rows were 60 and 50  $\mu\text{m}$  in depth, respectively. After drilling, the powder remaining on the otolith was transferred with Teflon coated stainless steel tweezers (Dumont #5 Forceps, Fine Science Tools, California, United-States) to an aluminum foil

envelope and weighed to ensure the amount was at least 150 µg or more. Envelopes were washed with ethanol and dried prior to receiving powder samples. Tweezers and drill bits were also washed with ethanol before manipulating each otolith to prevent contamination across samples. Aluminum envelopes containing otolith powder samples were then shipped to GEOTOP for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  analysis.

#### 1.8.3.6 Isotope analysis

For each otolith sample, a minimum of 100 µg of carbonate material was transferred into glass conical bottomed vials closed with septum caps. Samples were then heated at 90 °C for an hour, after which they were analyzed with a Micromass<sup>TM</sup> model Isoprime<sup>TM</sup> Isotope Ratio Mass Spectrometer (IRMS) coupled to a MultiCarb system in dual inlet mode. Two internal reference materials ( $\text{CaCO}_3$   $\delta^{13}\text{C} = 2,21 \pm 0,03\text{‰}$  &  $-40,78 \pm 0.05\text{‰}$ ;  $\delta^{18}\text{O} = -1,48 \pm 0,03\text{‰}$  &  $-14,25 \pm 0,05\text{‰}$ ) were used to normalize the results on the NBS19-LSVEC scale. Isotope ratios were calculated using the following equation:

$$(1) \quad \delta A = \left[ \left( \frac{R_A}{R_{st}} \right) - 1 \right] * 10^3$$

Where  $R_A$  and  $R_{st}$  are the ratio between heavier and lighter carbon and oxygen isotopes for the sample material and the international standard (VPDB), respectively. Isotope values were reported in standard delta ( $\delta$ ) parts per thousand (‰) relative to Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB): Overall uncertainty was less than  $\pm 0.05\text{‰}$  for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\pm 0.08\text{‰}$  for  $\delta^{18}\text{O}$ .

For water DIC carbon isotope analysis, between 0.5-2 mL of the sample was pipetted into 3 mL glass vials, which were previously charged with 10-15 drops of phosphoric acid ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) and purged with helium (He). Samples were then heated at 60 °C for an hour, after which headspace  $\text{CO}_2$  was analyzed using a Micromass MicroGas<sup>TM</sup> system coupled to an Isoprime 100<sup>TM</sup> IRMS in continuous flow mode. As with carbonate isotope analysis, two



internal reference materials were used ( $\delta^{13}\text{C} = -3,41 \pm 0,06\text{‰}$  &  $-19,51 \pm 0,05\text{‰}$  vs VPDB) to normalize the results on the NBS19-LSVEC scale. Results were reported as standard delta ( $\delta$ ) parts per thousand (‰) relative to VPDB. Overall uncertainty was less than  $\pm 0.1\text{‰}$ .

For water oxygen isotope analysis, 200  $\mu\text{L}$  of the water sample was pipetted into a 3 mL glass vial which was then heated at 40 °C for an hour. After heat treatment, using an Isoprime™ aquaprep system, the air in the vials was replaced with  $\text{CO}_2$  and they were then left to equilibrate for 7 h. The equilibrated samples were analyzed for oxygen isotope composition with a Micromass™ model Isoprime™ IRMS coupled to an AquaPrep system in dual inlet mode. Three internal reference waters ( $\delta^{18}\text{O} = 0,11 \pm 0.07 \text{‰}$ ,  $-13,80 \pm 0.06\text{‰}$  &  $-20,37 \pm 0.03\text{‰}$ ) were used to normalize the results on the VSMOW-SLAP scale. A 4<sup>th</sup> reference water sample ( $\delta^{18}\text{O} = -4,37 \pm 0.06\text{‰}$ ) was analyzed as an unknown to assess the exactness of the normalization. Results were reported as standard delta ( $\delta$ ) parts per thousand (‰) relative to VSMOW. Overall uncertainty was less than  $\pm 0.1\text{‰}$ .

#### 1.8.3.7 Estimations of $M_{\text{oto}}$

$M_{\text{oto}}$  was estimated using the following equation taken from Chung et al. (2019b):

$$(2) \quad M_{\text{oto}} = \frac{(\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}})}{(\delta^{13}\text{C}_{\text{diet}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}})} + \varepsilon$$

where  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ ,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{diet}}$  are the  $\delta^{13}\text{C}$  values of otoliths, dissolved inorganic carbon in water and diet, respectively.  $\varepsilon$  is the total net isotopic fractionation during carbon exchange between DIC and blood and between blood and endolymph. The net fractionation was fixed at zero following the findings of Solomon et al. (2006).  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  was estimated by calculating the average value between sampling sites and experimental water. This was done because carbonate material sampled from otoliths could represent a larger timeframe than our one-month acclimation period.  $\delta^{13}\text{C}_{\text{diet}}$  values were taken from a study on American silver eels in the Ontario Lake Systems and applied to all of our eels (Fitzsimons et al., 2013). Data used to calculate  $M_{\text{oto}}$  values are presented in table S1.

Data on  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  and  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values from other studies were used for comparison purposes. We obtained these data from multiple studies on multiple species by either transcribing presented tables or digitizing plots of  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  and  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values using Plotdigitizer<sup>TM</sup> (PlotDigitizer, 3.1.5, 2023, <https://plotdigitizer.com>).

#### 1.8.3.8 Statistical analysis

Respirometry data were analyzed using the respR package (Harianto et al., 2019) in RStudio (Rstudio Team, 2020). This package runs a rolling regression algorithm on each measurement phase to determine the most linear portion and then calculates the slope which represents the rate of oxygen consumption for each measurement phase. Afterwards, specific metabolic rates were obtained by correcting for mass and expressed as  $\text{mgO}_2 \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ . Routine metabolic rate was calculated as the mean of the lowest 40<sup>th</sup> percentile of the rates measured for each measurement phase during the 24-hour experimental period.

The residuals derived from all linear regression analyses that examined the relationship between otolith FMR proxies ( $M_{\text{oto}}$  and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ ) and metabolic parameters (RMR, mass), in addition to  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values, failed to demonstrate a normal distribution. This deviation from normality suggests that the prerequisites for linear regression and one-way ANOVA were not satisfied, a situation likely due to the limited sample size. Consequently, non-parametric tests, which do not assume a normal distribution of the data, were used to analyze these relationships. Spearman's rank correlation tests were used to evaluate correlations between otolith FMR proxies ( $M_{\text{oto}}$  and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values) and metabolic parameters (RMR, mass) as well as with  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values. Before executing correlation tests, data on routine metabolic rate and wet mass were  $\log_{10}$  transformed because the relation between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values and metabolic parameters (RMR, mass) is of a logarithmic nature (Chung et al., 2019a, 2019b; Martino et al., 2020). Correlation test results are presented with Spearman's rank correlation coefficients ( $r(\text{degrees of freedom})$ ) and p-values (p). For testing significant respirometry water temperature and salinity differences between our four

trials, Kruskal-Wallis tests were executed followed by a pairwise comparison to determine which trials had significantly different conditions. Kruskal-Wallis test results were presented with chi-squares ( $\chi^2$ ), degrees of freedom (df) and p-values (p). A significance level ( $\alpha$ ) of 0.05 was used for each statistical test.

#### **1.8.4 Results**

Experimental water temperatures (i.e., water used during respirometry experiments) for trials 1 and 3 did not differ significantly in median temperatures ( $p = 0.059$ ) but trials 2 and 4 did when compared with all trials and were significantly lower than trials 1 and 3 ( $p < 0.050$ , Table 2). Trials 2 and 4 presented no significant differences in salinity ( $p = 0.139$ ) but trials 1 and 3 were significantly different when compared with all trials and were significantly lower than trials 2 and 4 ( $p < 0.050$ , Table 2). Although experimental temperatures and salinities differed between trials, eel median routine metabolic rates did not ( $\chi^2 = 6.75$ ,  $df = 3$ ,  $p = 0.08$ , Table 2 and Table 3).

Table 3. Medians and interquartile ranges for routine metabolic rate,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values,  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values and  $M_{\text{oto}}$  for each trial group. 10 eels were sampled for trials 1 and 2. Seven eels were sampled for trial 3 and 12 were sampled for trial 4. Complete dataset and values of parameters used to calculate  $M_{\text{oto}}$  are presented in the supplementary files (Table S1).

Trial	Routine metabolic rate ( $\text{mgO}_2\text{kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ )	$\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$ (‰)	$M_{\text{oto}}$
1	11.60 (IQR = 11.20 – 13.40)	-4.51 (IQR = -4.81 – (-4.33))	-7.52 (IQR = -7.85 – (-7.38))	-0.13 (IQR = -0.22 – (-0.08))
2	11.60 (IQR = 10.20 – 20.40)	-5.71 (IQR = -9.35 – (-3.50))	-8.66 (IQR = -9.37 – (-7.45))	0.19 (IQR = 0.07 – 0.45)
3	11.40 (IQR = 11.00 – 11.80)	-4.91 (IQR = -8.24 – (-4.63))	-7.79 (IQR = -10.1 – (-7.47))	0.22 (IQR = 0.19 – 0.41)
4	9.25 (IQR = 8.28 – 10.00)	-4.19 (IQR = -4.77 – (-3.73))	-7.56 (IQR = -8.05 – (-7.36))	0.06 (IQR = 0.04 – 0.10)

A negative and significant correlation was observed between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values and routine metabolic rates where  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values decreased with increasing RMR ( $r(29) = -0.41$ ,  $p = 0.021$ , Figure 7A). A significant but positive correlation was also found between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values and wet mass ( $r(29) = 0.45$ ,  $p = 0.011$ , Figure 7B).  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values had the strongest significant correlation with  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values ( $r(29) = 0.81$ ,  $p < 0.001$ , Figure 7C).

For  $M_{\text{oto}}$ , contrary to  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values, there was no significant correlation with routine metabolic rate ( $r(29) = 0.07$ ,  $p = 0.72$ , Figure 7D). However, significant negative correlations were found between  $M_{\text{oto}}$  and wet mass ( $r(29) = -0.39$ ,  $p = 0.027$ , Figure 7E) as well as  $M_{\text{oto}}$  and  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values ( $r(29) = -0.67$ ,  $p < 0.001$ , Figure 7F). As with  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values, the independent variable presenting the strongest correlation with  $M_{\text{oto}}$  were the  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values.

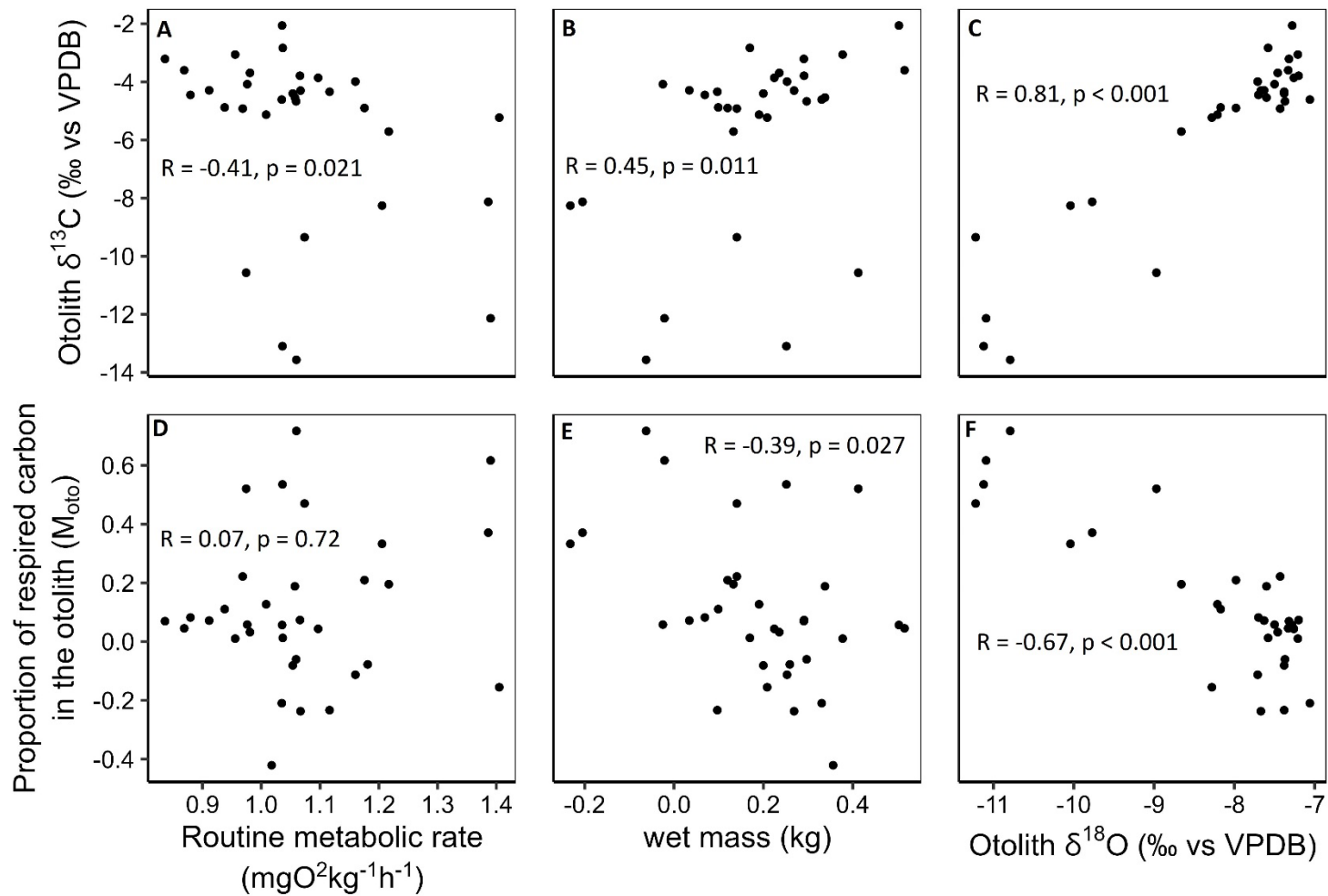


Figure 7. Plots of  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values and  $M_{\text{oto}}$  as a function of routine metabolic rate (A,D), wet mass (B,E) and  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values (C,F). R represents spearman's rank correlation coefficient. Significant correlations were found for every relationship except for (D)  $M_{\text{oto}}$  and routine metabolic rate.

When comparing the relationship between  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values found in our study with those found in the literature, we observed similarities as well as differences (Figure 8). In this study, a positive relationship was observed like in all other studies except for Thorrold et al. (1997) who observed a negative relationship for the Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*). Schaner et al. (2007) observed a relationship in lake trout (*Salvelinus namaycush*) that closely resembles our slope and general  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values. All other studies presented gentler slopes as well as much higher  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values. Nelson et al. (1989) observed similar  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values in the common smelt (*Retropinna retropinna*) yet found a near 0 slope.

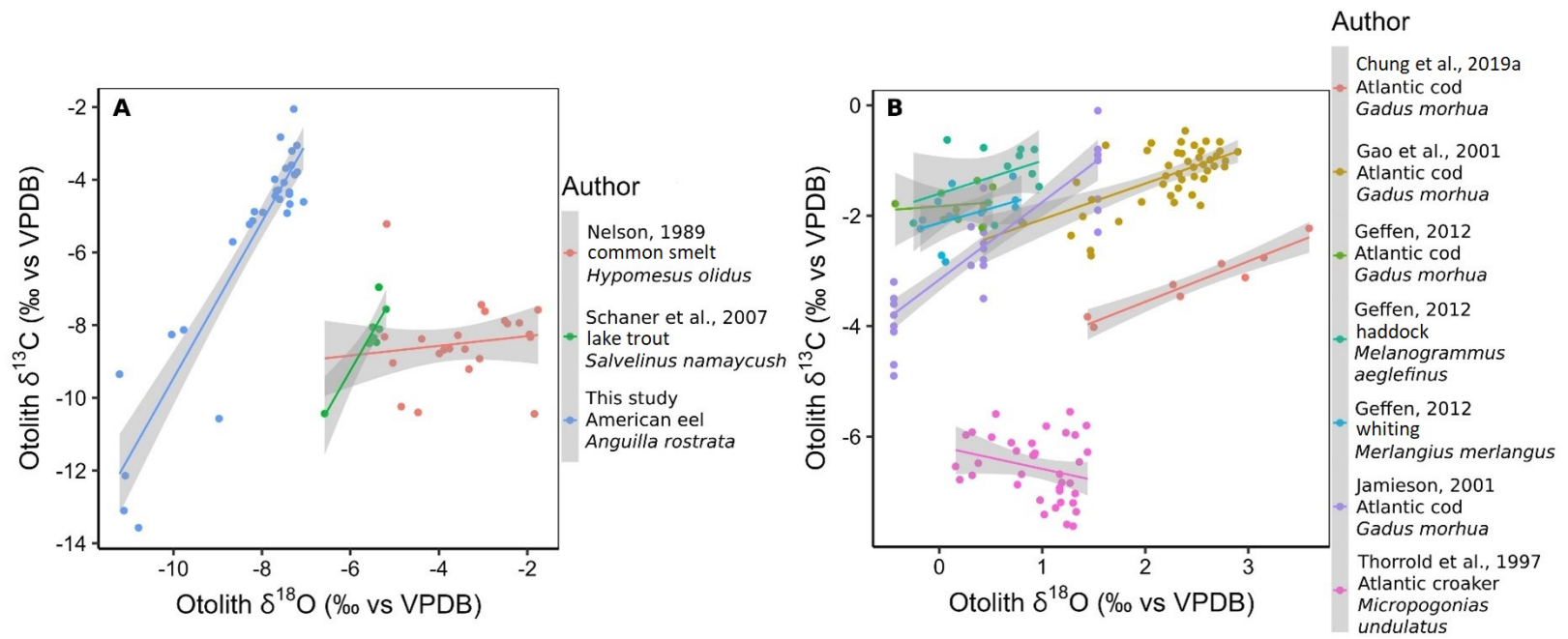


Figure 8. Plot comparing relationships between  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values for A) freshwater species and B) marine species. The grey band around regression lines represents the 95% confidence interval.

### 1.8.5 Discussion

$\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values can be useful when studying the effects of life history on fish bioenergetic potential. They can serve as time-integrated records of FMR due to their relationship with metabolic processes (Chung et al., 2019a, 2019b). Despite the otolith's great potential as a FMR proxy, the lack of concrete experimental validation constrains its use in fisheries management and conservation efforts. In this study, we confirmed the correlation between otolith carbon isotopes and metabolic rate by comparing two main otolith FMR proxies ( $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values and  $M_{\text{oto}}$ ) with indirect metabolic proxies (Routine Metabolic Rate [RMR], Mass) as well as  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values.

For  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values, significant correlations were found with routine oxygen consumption rates, wet mass and  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values (Figure 7). Higher metabolic rates were linked with lower  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values. Although isotopic values differed, the negative correlation between oxygen consumption rates and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values observed in this study is in agreement with those found in similar studies (Chung et al., 2019b; Martino et al., 2020). Therefore, it can be inferred that the mechanism in which higher oxydation rates result in higher  $M_{\text{oto}}$  and consequently lower  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values, is also present in the American eel (Kalish, 1991a; Solomon et al., 2006; Tohse and Mugiya, 2008). This indicates that  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values could potentially be used as metabolic rate proxies when conducting studies on the American eel's metabolic life history and the consequent effect of habitat conditions.

A significant correlation was also observed between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values and wet mass (Figure 7). Eels with higher body masses presented higher  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values indicating lower mass specific metabolic rates, which supports the observed relationship between mass and metabolic rates. In teleost fish, metabolic rates increase with body mass (Degani et al., 1989; Clarke and Johnston, 1999; Gillooly et al., 2001). In contrast, mass specific metabolic rates tend to decrease with higher body mass (Fidhiany and Winckler, 1998). Therefore, our results reaffirm the influence of metabolic processes on otolith carbon isotopes and suggest that  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values are linked with mass specific metabolic rate.



Aside from the effect of body mass on metabolic rate, variability in morphometric traits could also have an impact on  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values. Sherwood and Rose (2003) found that models including caudal aspect ratio ( $K_{\text{caud}}$ ) explained the most variability among species'  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values. Higher caudal aspect ratios resulted in lower  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values and therefore, higher metabolic rates.  $K_{\text{caud}}$  affects metabolic rate and consequently,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values through its influence on swimming performance. A higher  $K_{\text{caud}}$  is usually associated with continuously active, pelagic feeding fish such as tuna (*Thunnus sp.*), whereas species with lower  $K_{\text{caud}}$  are less active and benthic feeders (e.g., Atlantic cod (*Gadus morhua*)) (Webb, 1984). Unfortunately, we could not test this theory because  $K_{\text{caud}}$  was not calculated in this study. However, aside from fin morphometric differences, body length differences can also influence swimming energy requirements. Studies have shown that small fish tend to have higher swimming speeds relative to body length than larger fish due to higher tailbeat frequencies (Bainbridge, 1958; Wardle, 1975). With higher tail beat frequencies comes higher mass-specific metabolic rates (Steinhausen et al., 2005; Ohlberger et al., 2007). Therefore, eels with smaller sizes could present higher mass-specific metabolic rates due to larger relative energy requirements needed for swimming, thus, leading to lower  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values. However, additional measurements would be needed to determine if body size is related to morphometric differences and if these differences could imply different energy requirements for swimming in the American eel.

Although these results demonstrate the presence of a correlation between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values and oxygen consumption rates, a number of uncertainties surround the methods used in this study. First, the amount of carbonate material extracted from our otoliths could represent a longer time period than our one-month acclimation period. We drilled a minimum of 150  $\mu\text{g}$  per otolith because this was the minimum amount required to execute isotopic analysis. This is much more than what has been used in similar studies where 10–30  $\mu\text{g}$  of otolith material was analyzed (Gao et al., 2001; Solomon et al., 2006). The carbonate samples would most likely represent a timeframe two to three months longer than the one-month acclimation period. This could explain why such high variability was observed between  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values (4.16‰) relative to experimental water temperature

variation (4.4 °C). Kalish (1991a) concluded that a change in  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values of 1.0‰ is equivalent to a change of ~4.8 °C. Gou et al. (2022) observed a variation of 1.01‰ in chum salmon (*Oncorhynchus keta*)  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values over a range of 11 °C (9-20 °C) while Geffen (2012) observed a variation of 1.18‰ in  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values of plaice (*Pleuronectes platessa*) reared at 11 and 17 °C. Consequently, the carbon isotopic composition of sampled carbonate material was also potentially influenced by field metabolic rates preceding the acclimation period. Yet, we still observed a significant correlation between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values and respiration rates measured during our experimental trials. This could indicate a similarity between routine metabolic rates measured during this study and the average field metabolic rates of American eels during the period preceding sampling.

During the acclimation periods and respirometry trials, eels were not fed and had space for minimal routine movement; hence their metabolic state was defined as routine metabolic rate. Because eels do not feed during their migration, which begins in May to mid-June, SDA energy requirements during the months preceding sampling and during the acclimation and trial periods were probably similar (McGrath et al., 2002).

Moreover, migrating silver eels are in constant gonadal development until they reach their spawning site (Han et al., 2001; Tesch and Bartsch, 2003). Thus, eels in respirometer chambers were possibly still spending energy on gonadal development. Consequently, maturation energy requirements are present even in captivity, which adds to the similarity between routine metabolic rates obtained during this study and past FMR from the last few months. The only variation between energy requirements of eels during and before our experimental period could be due to locomotory energy requirements. Eel migration speeds range from 0.27-88.7 km·day<sup>-1</sup> (Béguer-Pon et al., 2014), therefore, in many cases, energy required for locomotion could be underestimated due to the limited movement allowed. Yet, the differences in energy requirements could be negligible allowing for significant correlations to be seen between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values and RMR even though our temporal resolution was less than adequate.

The very strong significant correlation between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  and  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values observed in this study could further validate the link between metabolic rates and otolith carbon isotopes in the American eel. The positive correlation found between these two values is in agreement with many other studies (Fig. 8; Kalish, 1991a; Iacumin et al., 1992; Gauldie, 1996; Thorrold et al., 1997; Gao et al., 2001; Jamieson, 2001; Ashford and Jones, 2007; Geffen, 2012; Chung et al., 2019a; Martino et al., 2020). Although these findings suggest that  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values are linked with temperature, studies have shown that, contrary to oxygen, carbon isotopes are deposited on the otolith in disequilibrium with carbon isotopes from DIC. Consequently, it had been suggested by Kalish (1991a) and Thorrold et al. (1997) that the correlation between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  and  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values was likely attributed to an internal mechanism, particularly the effect of temperature on  $M_{\text{oto}}$ . Further studies confirmed that  $M_{\text{oto}}$  is mainly controlled by metabolic rate (Solomon et al., 2006; Dufour et al., 2007; Tohse and Mugiya, 2008). This indicates that the relationship between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  and  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values is likely due to the effect of temperature on metabolic rate and  $M_{\text{oto}}$ . Higher  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values, and consequently lower temperatures, would induce lower metabolic rates and therefore, higher  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values. As such, the presence of this correlation in American eel otoliths indicates that this same mechanism could also be at play for this species adding to the validity of  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values as a metabolic proxy.

It is worth noting that salinity can also have an impact on  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values and could therefore influence our data (Elsdon and Gillanders, 2002). This is especially the case when comparing  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values between freshwater and marine species and could explain why our  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values are more similar to those from studies on freshwater species than to those on marine species (Fig. 7). However, the otolith carbonate samples analyzed most likely represented a timeframe in which eels were mainly in their original freshwater habitats. Therefore, salinity variations would have had a negligible effect on individual variations of  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values.

In this study,  $M_{\text{oto}}$  presented significant correlations with mass and  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values. However, no significant correlation was observed with routine metabolic rates (Figure 6).

The lack of significant correlations between oxygen consumption rates and  $M_{oto}$  could be due to uncertainties surrounding the parameters used to calculate  $M_{oto}$  ( $\delta^{13}C_{DIC}$  and  $\delta^{13}C_{diet}$  values). Because carbonate samples collected in this study were potentially representative of a larger timeframe than the acclimation period,  $\delta^{13}C_{oto}$  values were most likely affected by water  $\delta^{13}C_{DIC}$  from sampling sites and original habitats. The influence of  $\delta^{13}C_{DIC}$  could be somewhat corrected by sampling water from sampling sites but  $\delta^{13}C_{DIC}$  from original habitats remained unknown. Furthermore, although we took water samples from sampling sites, due to varying migratory speeds, the time each eel spent at any given sampling site is still unknown. Consequently, we have no knowledge on the length of time in which eels were affected by sampling site water DIC.  $\delta^{13}C$  diet values were also unknown due to the lack of knowledge on habitat origins and diet. These values can be indirectly estimated through isotopic analysis of muscle tissue or otolith organic material (Ankjærø et al., 2012; Sirot et al., 2017). However, due to time constraints, these analyses could not be executed. Instead, we used the average muscle tissue  $\delta^{13}C$  value measured during a study on American eels from the Ontario Lake systems and St. Lawrence estuary (Fitzsimons et al., 2013).

The fact that, even in the presence of these uncertainties, we still found correlations between metabolic parameters and  $\delta^{13}C_{oto}$  values, as well as  $M_{oto}$  estimations, could be due to many factors. First, variations in  $\delta^{13}C_{diet}$  and  $\delta^{13}C_{DIC}$  values could have a smaller impact on  $\delta^{13}C_{oto}$  values than expected, especially in freshwater fish. Chung et al. (2019a) found that to significantly affect otolith carbon isotopic composition, an extreme variation in  $\delta^{13}C_{diet}$  values is needed. Variations in mean  $\delta^{13}C$  values of muscle tissues from American eels caught in Lake Ontario and those caught in the St. Lawrence estuary are no greater than 1.5‰ (Fitzsimons et al., 2013). Because a 1‰ variation in  $\delta^{13}C_{diet}$  values only results in a maximum variation of 0.005% for  $M_{oto}$  estimations, we can assume that uncertainties related to our specimen's  $\delta^{13}C_{diet}$  values are negligible (Chung et al., 2019a). Dietary shifts during migration are also highly unlikely considering that American eels do not feed.

In contrast, variations in  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  values have a greater impact on  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  than dietary carbon. A 1‰ variation can result in a variation of up to 30% in  $M_{\text{oto}}$  estimations. This might be the reason behind our lack of correlation between  $M_{\text{oto}}$  and routine metabolic rate as well as the presence of negative values which is theoretically impossible. Yet, we still present our estimations because significant correlations were found between  $M_{\text{oto}}$  and wet mass as well as  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values. Also, some studies have shown that in freshwater ecosystems, variations in intra otolith  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values are not governed by water  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  values, especially in older specimens (Wurster and Patterson, 2003; Dufour et al., 2007). Indeed, Wurster and Patterson (2003) observed  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values that were distinctly lower than predicted  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  values and presented greater seasonal variations. Furthermore, seasonal trends between these two values were opposite.  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values presented negative trends of variation when  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  presented positive trends. Therefore, it is possible that DIC in freshwater systems does not have the same influence on  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values compared to dietary carbon as with marine fish. This could possibly be due to differences in the mechanisms of DIC uptake into the bloodstream between freshwater fish and marine fish. Absorption of DIC is done at the water-gill interface in freshwater fish and water-intestine interface in marine fish (Campana, 1999). Yet, knowledge of interactions between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values, metabolic rates,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{diet}}$  values and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  values is lacking for freshwater fish (Kalish, 1991a; Kalish, 1991b; Solomon et al., 2006; Chung et al., 2019a, 2019b; Martino et al., 2020). This lack of knowledge is also accentuated by the high variations in  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  values from freshwater ecosystems compared to marine ecosystems. Ocean  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  values typically range from 0 to 3‰ (Tagliabue and Bopp, 2008). In contrast, in the St. Lawrence riverine system,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  values present temporal and seasonal variations of up to 15‰ (Yang et al., 1996; Barth et al., 1998; Hélie et al., 2002). Consequently, more research is needed to compare the effect of  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{diet}}$  values on  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values between freshwater fish and marine fish.

The robustness of  $M_{\text{oto}}$  as a metabolic proxy is further supported by the fact that, similar to  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values,  $M_{\text{oto}}$  estimates had a very strong, significant, and negative correlation with  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values. This correlation indicates that temperature and its effect on

metabolic rate could possibly have a much stronger influence on  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values and  $M_{\text{oto}}$  compared to  $\delta^{13}\text{C}$  values of diet and dissolved inorganic carbon.

In conclusion, the significant correlations observed in this study support the use of  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values as a proxy for field metabolic rate in the American eel. Two main differences between our study and others who have tested this proxy are: the use of a freshwater species, and the inability to obtain accurate estimates of  $\delta^{13}\text{C}_{\text{diet}}$  and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  values. However, the presence of similar significant correlations, despite many uncertainties, could indicate a certain robustness towards this proxy, at least, when making intraspecific comparisons in freshwater species. The results of this study are promising for the potential future application of this proxy in conservation research and management efforts for the American eel. Future research on this proxy should focus on elucidating the precise effect of  $\delta^{13}\text{C}_{\text{diet}}$  and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  values on  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values. Furthermore, the equation that allows researchers to estimate field oxygen consumption rates based on  $\delta^{13}\text{C}_{\text{diet}}$ ,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ , and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values is species specific (Chung et al., 2019a; Martino et al., 2020). Consequently, calibration studies are needed for each species.

The use of this tool could eliminate many difficulties faced by researchers when studying the effect of environmental factors on metabolic history in free ranging fish to understand how climate change will affect these aquatic species. This is especially the case for species such as the American eel who has a complex life history and who is difficult to observe in the wild, particularly during their migration.  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  values could allow researchers to reconstruct an eel's FMR throughout its entire migratory route, something that is near impossible with conventional methods such as respirometry. Consequently, bioenergetics models could be easily developed with *in situ* estimates of field metabolic rate and could be used in management and conservation efforts to estimate migratory success rates, among other useful parameters, in different climate change scenarios (Macdonald et al., 2010). This would help implement more effective and preventive management plans that take into account future climate change impacts on fish populations (Young et al., 2006; Fenkes et al., 2016).

### 1.8.6 Supplementary files

Table S1. Data used to calculate  $M_{\text{oto}}$  estimations for each eel and  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  values used as temperature proxies.  $\delta^{13}\text{C}_{\text{diet}}$  was set at -18.40‰ following  $\delta^{13}\text{C}$  values measured in muscle tissues from American eels sampled along the St-Lawrence River system. The isotopic fractionation factor ( $\epsilon$ ) was set at 0 following the findings of Solomon et al. (2006). Ages were estimated by counting otolith annual increments.

Eel#	Wet mass (kg)	Age	$\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ (‰)	$M_{\text{oto}}$ (‰)
1	1.250	12+	-4.34	-7.38	-7.00	-0.23
2	1.584	13+	-4.40	-7.38	-7.00	-0.08
4	1.784	17+	-13.10	-11.12	-7.00	0.54
5	1.856	15+	-4.30	-7.67	-7.00	-0.24
6	1.980	10+	-4.67	-7.37	-5.45	-0.06
8	1.790	17+	-3.99	-7.71	-5.45	-0.11
9	1.616	12+	-5.23	-8.28	-7.00	-0.16
10	2.140	12+	-4.61	-7.06	-7.00	-0.21
12	1.954	9+	-3.79	-7.20	-2.63	0.07
13	1.478	11+	-2.83	-7.58	-2.63	0.01
14	0.624	10+	-8.13	-9.77	-2.08	0.37
15	1.952	12+	-3.21	-7.32	-2.08	0.07
17	1.358	11+	-5.71	-8.66	-2.63	0.20
18	0.952	14+	-12.14	-11.09	-2.08	0.62
20	2.584	13+	-10.57	-8.97	-2.08	0.52
21	1.382	11+	-9.35	-11.22	-1.33	0.47
22	3.186	14+	-2.06	-7.28	-1.08	0.06
23	1.382	10+	-4.92	-7.43	-1.08	0.22
24	2.176	8+	-4.54	-7.60	-1.33	0.19

Eel#	Wet mass (kg)	Age	$\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ (‰)	$M_{\text{oto}}$ (‰)
25	0.866	12+	-13.57	-10.79	-1.33	0.72
27	1.318	12+	-4.90	-7.98	-1.33	0.21
28	3.280	19+	-3.60	-7.33	-2.90	0.05
29	1.550	NA	-5.13	-8.21	-3.20	0.13
31	2.384	9+	-3.06	-7.21	-2.90	0.01
32	1.082	12+	-4.29	-7.63	-3.20	0.07
33	1.256	8+	-4.88	-8.17	-3.20	0.11
34	1.720	13+	-3.69	-7.46	-3.20	0.03
35	1.676	10+	-3.86	-7.26	-3.20	0.04
37	1.172	13+	-4.45	-7.70	-3.20	0.08
38	0.944	10+	-4.08	-7.50	-3.20	0.06
39	0.586	12+	-8.26	-10.04	-3.20	0.33



Table S2. Summary of respirometry criteria used in this study (Table taken from Killen & al., 2018).

Number	Criterion and Category	Response
EQUIPMENT, MATERIALS, AND SETUP		
1	Body mass of animals at time of respirometry	Body masses of sampled eels are presented in table S1
2	Volume of empty respirometers	45.239 L
3	How chamber mixing was achieved	Chamber mixing was achieved using a water pump with a flow rate of 600 L·h <sup>-1</sup>
4	Ratio of net respirometer volume (plus any associated tubing in mixing circuit) to animal body mass	14.23 – 77.39
5	Material of tubing used in any mixing circuit	tygon
6	Volume of tubing in any mixing circuit	0.152 L
7	Confirm volume of tubing in any mixing circuit was included in calculations of oxygen uptake	The volume of the tubing in the mixing circuit was included in calculations of oxygen uptake
8	Material of respirometer (e.g. glass, acrylic, etc.)	acrylic
9	Type of oxygen probe and data recording	An oxygen mini sensor connected to an oxygen meter (Wiltrox 4) with an optical fiber cable was used to log oxygen

Number	Criterion and Category	Response
		saturation
10	Sampling frequency of water dissolved oxygen	Water dissolved oxygen was sampled and logged every second with the oxygen meter
11	Describe placement of oxygen probe (in mixing circuit or directly in chamber)	The oxygen probe was placed in the mixing circuit using a flow-through oxygen cell
12	Flow rate during flushing and recirculation, or confirm that chamber returned to normoxia during flushing	The flow rate was 3028 L·h <sup>-1</sup> during flushing and 600 L·h <sup>-1</sup> during recirculation
13	Timing of flush/closed cycles	Flush cycle: 5 minutes Closed cycle: 25 minutes.
14	Wait (delay) time excluded from closed measurement cycles	5 minutes
15	Frequency and method of probe calibration (for both 0 and 100% calibrations)	0 and 100% calibrations were done before the start of each trial group
16	State whether software temperature compensation was used during recording of water oxygen concentration	Software temperature compensation was used during recording of water oxygen concentration
MEASUREMENT CONDITIONS		

Number	Criterion and Category	Response
17	Temperature during respirometry	Temperatures during respirometry experiments are presented in table 2.
18	How temperature was controlled	Temperature was not controlled
19	Photoperiod during respirometry	Local natural photoperiods were used during the acclimation periods. Lights were turned off during respirometry trials to reduce stress
20	If (and how) ambient water bath was cleaned and aerated during measurement of oxygen uptake (e.g. filtration, periodic or continuous water changes)	New and oxygenated water was continuously pumped into the ambient water bath
21	Total volume of ambient water bath and any associated reservoirs	300 L
22	Minimum water oxygen dissolved oxygen reached during closed phases	N/A
23	State whether chambers were visually shielded from external disturbance	Tarps were hung in front of the chambers in order to shield the eels from external disturbances
24	How many animals were measured during a given respirometry trial (i.e. how many animals were in the same	1 eel was place per water bath per trial

Number	Criterion and Category	Response
	water bath)	
25	If multiple animals were measured simultaneously, state whether they were able to see each other during measurements	N/A
26	Duration of animal fasting before placement in respirometer	Eels were not fed during the one-month acclimation period prior to the respirometry trials
27	Duration of all trials combined (number of days to measure all animals in the study)	It took 4 trials of 3 to 6 days to complete all measurements.
28	Acclimation time to the laboratory (or time since capture for field studies) before respirometry measurements	1 month
BACKGROUND RESPIRATION		
29	State whether background microbial respiration was measured and accounted for, and if so, method used (e.g. parallel measures with empty respirometry chamber, measurements before and after for all chambers while empty, both)	Background microbial respiration was measured by running the empty chambers through one full measurement before inserting the eel into the chamber and after having it removed.

Number	Criterion and Category	Response
30	State if background respiration was measured at beginning and/or end, state how many slopes and for what duration	Background microbial respiration was measured at the beginning and end. One whole measurement phase was used for each instance.
31	State how changes in background respiration were modelled over time (e.g. linear, exponential, parallel measures)	Linear interpolation
32	Method and frequency of system cleaning (e.g. system bleached between each trial, UV lamp)	The chambers were cleaned with antibacterial soap after each trial group.
STANDARD OR ROUTINE METABOLIC RATE		
34	Acclimation time after transfer to chamber, or alternatively, time to reach beginning of metabolic rate measurements after introduction to chamber	1 hour
35	Time period, within a trial, over which oxygen uptake was measured (e.g. number of hours)	24 hours
36	Value taken as SMR/RMR (e.g. quantile, mean of lowest 10 percent, mean of all values)	Mean of the lowest 40 <sup>th</sup> percentile

Number	Criterion and Category	Response
37	Total number of slopes measured and used to derive metabolic rate (e.g. how much data were used to calculate quantiles)	40-43
38	Whether any time periods were removed from calculations of SMR/RMR (e.g. data during acclimation, periods of high activity [e.g. daytime])	N/A
39	r <sup>2</sup> threshold for slopes used for SMR/RMR (or mean)	0.8
DATA HANDLING AND STATISTICS		
50	Sample size	39 eels were sampled and measured
51	How oxygen uptake rates were calculated (software or script, equation, units, etc.)	Oxygen uptake rates were calculated using the respR package on Rstudio ( <a href="https://januarharianto.github.io/respR/index.html">https://januarharianto.github.io/respR/index.html</a> )
52	Confirm that volume (mass) of animal was subtracted from respirometer volume when calculating oxygen uptake rates	Animal mass was subtracted from total respirometer volume when calculating specific oxygen uptake rates
53	State whether analyses accounted for variation in body mass and describe any allometric mass-corrections or adjustments	Oxygen uptake rates were corrected for mass and presented as mg/kg*h



### CHAPITRE 3 : CONCLUSION GÉNÉRALE

Le taux métabolique de terrain revêt une importance écologique considérable dans l'étude de l'impact des changements climatiques sur les demandes énergétiques des espèces aquatiques. Il fournit une image précise de la demande énergétique d'un organisme *in situ*, mais il est souvent difficile, voire impossible à obtenir pour certaines espèces qui sont parfois inaccessibles sur le terrain, telles que l'anguille d'Amérique. Pour cette espèce, il est impossible de mesurer son FMR avec des méthodes conventionnelles, comme la respirométrie, lorsqu'elle est en migration et qu'elle peut se retrouver plus de mille mètres de profondeur. À cet égard, les proxys métaboliques offrent une alternative prometteuse pour les études bioénergétiques (Treberg et al., 2016). Entre autres, la composition isotopique du carbone dans les otolithes de poissons téléostéens (valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$ ) peut offrir un registre complet, de la naissance à la mort, des demandes énergétiques d'un organisme *in situ* (Chung et al., 2019a, 2019b). Un tel outil facilite l'acquisition de données métaboliques *in situ* en éliminant le besoin d'effectuer des expériences sur le terrain souvent complexes et coûteuses (Jones et al., 2023). Ainsi, il facilite également l'acquisition de connaissances concernant l'impact des changements climatiques sur le métabolisme d'un organisme aquatique dans son milieu naturel (Chung et al., 2021). Par conséquent, la présente étude visait à valider l'utilisation potentielle des valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  comme proxy du taux métabolique de terrain chez l'anguille d'Amérique.

Pour ce faire, les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  de 40 anguilles, acclimatées pendant un mois, ont été comparées avec leur taux métabolique de routine (RMR) mesuré par respirométrie, et la composition isotopique de l'oxygène dans l'otolithe (valeurs  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$ ), un proxy de la température. Les résultats obtenus ont montré une corrélation significative entre les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  et les taux de consommation d'oxygène, confirmant ainsi l'existence d'un lien entre les processus métaboliques de l'organisme et les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  chez l'anguille d'Amérique. Ce lien s'est d'autant plus confirmé par la présence d'une forte corrélation significative observée entre les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  et  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$ . Celle-ci indiquerait une influence de la température sur les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  par son influence directe sur le taux métabolique. La proportion de carbone métabolique dans l'otolithe ( $M_{\text{oto}}$ ) a aussi été calculée pour



chaque anguille, puis comparée avec les RMR et les valeurs  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$ . Aucune corrélation n'a été observée avec les RMR, tandis qu'une forte corrélation a été mise en évidence avec les valeurs de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$ . Cette absence de corrélation avec les taux de consommation d'oxygène pourrait s'expliquer par les incertitudes associées aux paramètres utilisés pour calculer  $M_{\text{oto}}$ . Néanmoins, la forte corrélation observée entre  $M_{\text{oto}}$  et les valeurs  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  indiquerait une certaine robustesse de ce proxy, notamment lors des études portant sur l'effet des variations thermiques.

## 1.9 FACTEURS LIMITANTS

Malgré les résultats encourageants, plusieurs facteurs limitent l'application pratique des découvertes découlant de cette étude. Tout d'abord, la méthodologie utilisée pour extraire les échantillons de carbonates offrait une faible résolution temporelle. L'idéal serait d'obtenir un échantillon représentatif de la période expérimentale pour que la valeur  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  de l'échantillon ne soit représentative que du taux métabolique de l'organisme mesuré durant l'étude. Les échantillons récoltés lors de cette étude représentaient probablement une période plus longue que le mois d'acclimatation et la période expérimentale. Par conséquent, l'histoire de vie précédant la capture des anguilles pourrait avoir influencé les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  des échantillons. Bien que cet aspect soit contraignant pour l'application des données en pratique, il est facilement corrigible. En effet, certaines techniques analytiques, telles que la spectrométrie de masse des ions secondaires et les analyses à la microsonde ionique, permettent d'analyser la composition isotopique de l'otolithe avec une résolution de seulement quelques jours (Weidel et al., 2011 ; Hane et al., 2022). Pour les études subséquentes, il serait aussi avantageux de marquer les otolithes au début de l'expérience en immergeant les poissons dans un composé chimique, tels que la tétracycline et l'alizarine complexone (Warren et al., 2018 ; Van der Walt et Faragher, 2003 ; Martino et al., 2020). Lors du microforage, la marque sera visible et permettra de distinguer facilement la section de l'otolithe qui correspond à la période expérimentale (Martino et al., 2020). Par manque de temps, ces méthodes alternatives n'ont pas pu être explorées dans le cadre de ce projet.

Ensuite, les paramètres utilisés pour calculer  $M_{oto}$  ( $\delta^{13}C_{DIC}$  et  $\delta^{13}C_{diète}$ ) introduisent une importante incertitude dans les estimations, ce qui pourrait expliquer l'absence de corrélation entre  $M_{oto}$  et RMR. Cette incertitude est notamment mise en évidence par la présence de valeurs de  $M_{oto}$  négatives, qui sont théoriquement impossibles. Néanmoins, l'existence d'une forte corrélation entre  $M_{oto}$  et les valeurs  $\delta^{18}O_{oto}$ , malgré une incertitude importante témoigne potentiellement de la fiabilité de ce proxy, particulièrement pour analyser les réponses métaboliques face aux changements de température. Les études portant sur l'influence des valeurs  $\delta^{13}C_{DIC}$  et  $\delta^{13}C_{diète}$  sur les valeurs  $\delta^{13}C$  globales de l'otolithe se limitent aux espèces marines (Solomon et al., 2006 ; Tohse and Mugiya, 2008). Il y a donc un besoin d'étudier l'influence de ces deux paramètres sur les valeurs  $\delta^{13}C_{oto}$  chez les espèces d'eau douce.

Finalement, le choix de l'espèce, l'anguille d'Amérique, a introduit des défis logistiques et méthodologiques particuliers. Étant donné le statut vulnérable de cette espèce au Québec, nous étions contraints de limiter la taille de notre échantillon, ce qui pourrait expliquer l'absence de normalité dans la distribution des résidus de nos tests statistiques paramétriques. De plus, la variabilité importante des longueurs corporelles des anguilles utilisées, allant de 63 cm pour 0,586 kg à 114 cm pour 3,186 kg, a entraîné des incohérences dans le ratio volume de la chambre de respirométrie/taille des individus. Cette variabilité a potentiellement affecté la précision de nos mesures respirométriques.

## **1.10 PERSPECTIVES**

En validant l'existence d'une relation entre le taux métabolique de routine et la composition isotopique du carbone dans l'otolithe, cette étude confirme le potentiel d'utilisation des valeurs  $\delta^{13}C_{oto}$  comme proxy du FMR chez l'anguille d'Amérique. C'est la première fois qu'une telle corrélation est confirmée chez une espèce catadrome. Jusqu'à présent, les deux seules études visant à établir un lien entre le taux de consommation d'oxygène et la composition isotopique des otolithes se sont concentrées sur des espèces marines. Il est donc envisageable de supposer que le mécanisme par lequel le taux

métabolique influence la composition isotopique du carbone dans les otolithes pourrait être commun à l'ensemble des poissons

Toutefois, cette étude n'est qu'un petit pas vers l'utilisation courante de ce proxy dans la recherche. Les mécanismes de déposition du carbone dans l'otolithe présentent une grande variabilité interspécifique qui peut avoir un impact sur l'interaction entre  $M_{oto}$  et le taux métabolique. Par conséquent, un travail de calibration doit être effectué pour chaque espèce afin de développer des équations spécifiques permettant de calculer le taux métabolique à partir de  $M_{oto}$ . Il n'a pas été possible de développer cette équation dans cette étude puisque les estimations de  $M_{oto}$  présentaient trop d'incertitudes, notamment dû au fait que le  $\delta^{13}C_{DIC}$  et  $\delta^{13}C_{diète}$  n'étaient pas connus. Il serait intéressant d'effectuer une étude similaire chez l'anguille d'Amérique en contrôlant les valeurs  $\delta^{13}C_{DIC}$  et  $\delta^{13}C_{diète}$  afin d'obtenir l'équation précise entre  $M_{oto}$  et le taux de consommation d'oxygène. Ceci dans l'objectif ultime de pouvoir effectuer des comparaisons interspécifiques des taux métaboliques de terrains estimés à partir de  $M_{oto}$ . De plus, en raison de mécanismes d'ingestion d'eau différents, l'influence des valeurs  $\delta^{13}C_{DIC}$  sur la valeur  $\delta^{13}C_{oto}$  pourrait être différente pour les espèces d'eau douce comparée aux espèces marines. Cette différence pourrait être élucidée en contrôlant les valeurs  $\delta^{13}C_{diète}$  et les taux métaboliques afin d'isoler l'effet des valeurs  $\delta^{13}C_{DIC}$  sur les valeurs  $\delta^{13}C_{oto}$  et comparer la relation observée entre ces deux variables chez les espèces d'eau douce avec celle observée chez les espèces marines.

Dans le cadre de cette recherche, notre attention s'est portée exclusivement sur la dernière phase de croissance des otolithes, représentant les ultimes mois de l'existence des anguilles. Néanmoins, une analyse exhaustive de l'otolithe, du cœur vers la marge, permettrait de déchiffrer l'intégralité du parcours métabolique de l'individu, depuis sa naissance jusqu'à son décès. Cette méthode présente l'avantage significatif de pouvoir observer les évolutions des réponses métaboliques au fil des différents stades de vie, et de repérer les phases les plus sensibles aux fluctuations de température. Spécifiquement pour l'anguille, cela ouvrirait la voie à l'acquisition de données métaboliques directes durant les

étapes migratoires, offrant une compréhension inédite des tactiques de gestion énergétique en migration. En outre, en croisant l'historique métabolique avec les caractéristiques de l'habitat via l'analyse des variations des valeurs  $\delta^{18}\text{O}_{\text{oto}}$  et des profils d'éléments traces, il devient envisageable de retracer les habitats d'origine, enrichissant ainsi notre compréhension des interactions environnementales tout au long de la vie de l'espèce.

Les otolithes constituent de puissants outils pour la recherche en bioénergétique et pour la gestion des pêcheries. L'utilisation des valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oto}}$  comme proxy du taux métabolique de terrain permettrait aux chercheurs de développer des modèles bioénergétiques plus précis. Ces modèles sont capables de générer, sous divers scénarios climatiques, des prédictions précises concernant des indicateurs clés de la santé des populations ou des espèces, tels que les taux de recrutement, la productivité et le succès migratoire. Grâce à la précision accrue de ces modèles, les gestionnaires pourront mieux appréhender les besoins en protection de chaque espèce ou stock, ce qui les aidera à élaborer des stratégies de gestion nettement plus efficaces, ciblées et adaptées aux particularités de chaque espèce ou population. En définitive, cela conduirait à une gestion des ressources aquatiques nettement plus durable.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aarestrup, K., Økland, F., Hansen, M.M., Righton, D., Gargan, P., Castonguay, M., Bernatchez, L., Howey, P., Sparholt, H., Pedersen, M.I., & McKinley, R.S., 2009. Oceanic Spawning Migration of the European Eel (*Anguilla anguilla*). *Science* **325**(5948): 1660–1660.
- Alfonso, S., Gesto, M., & Sadoul, B., 2021. Temperature increase and its effects on fish stress physiology in the context of global warming. *J. Fish Biol.* **98**(6): 1496–1508.
- Ankjær, T., Christensen, J.T., & Grønkjær, P., 2012. Tissue-specific turnover rates and trophic enrichment of stable N and C isotopes in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) fed three different diets. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **461**: 197–209.
- Ashford, J., & Jones, C., 2007. Oxygen and carbon stable isotopes in otoliths record spatial isolation of Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*). *Geochim. Cosmochim. Acta* **71**(1): 87–94.
- Atkins, M.E., & Benfey, T.J., 2008. Effect of acclimation temperature on routine metabolic rate in triploid salmonids. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* **149**(2): 157–161.
- Azevedo, P.A., Cho, C.Y., Leeson, S., & Bureau, D.P., 1998. Effects of feeding level and water temperature on growth, nutrient and energy utilization and waste outputs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat. Living Resour.* **11**(4): 227–238.
- Bai, H., Wang, Y., Zhang, T., Dai, F., Huang, L., & Sun, Y., 2022. Determination of trophic levels of marine fish in the Yellow Sea and northern East China Sea using nitrogen stable isotope ( $\delta^{15}\text{N}$ ) analysis of otoliths. *J. Oceanol. Limnol.* **40**(2): 634–642.
- Bainbridge, R., 1958. The speed of swimming of fish as related to size and to the frequency and amplitude of the tail beat. *J. Exp. Biol.* **35**(1): 109–133.
- Barth, J.A., Veizer, J., & Mayer, B., 1998. Origin of particulate organic carbon in the upper St. Lawrence: isotopic constraints. *Earth Planet. Sci. Lett.* **162**(1–4): 111–121.

- Béguer-Pon, M., Castonguay, M., Benchetrit, J., Hatin, D., Verreault, G., Mailhot, Y., Tremblay, V., Lefaiivre, D., Legault, M., & Stanley, D., 2014. Large-scale migration patterns of silver American eels from the St. Lawrence River to the Gulf of St. Lawrence using acoustic telemetry. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **71**(10): 1579–1592.
- Béguer-Pon, M., Castonguay, M., Shan, S., Benchetrit, J., & Dodson, J.J., 2015. Direct observations of American eels migrating across the continental shelf to the Sargasso Sea. *Nat. Commun.* **6**(1): 1–9.
- Benchetrit, J., Béguer-Pon, M., Sirois, P., Castonguay, M., Fitzsimons, J., & Dodson, J.J., 2017. Using otolith microchemistry to reconstruct habitat use of American eels (*Anguilla rostrata*) in the St. Lawrence River–Lake Ontario system. *Ecol. Freshw. Fish* **26**(1): 19–33.
- Boisclair, D., & Leggett, W.C., 1989. The importance of activity in bioenergetics models applied to actively foraging fishes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **46**(11): 1859–1867.
- Briggs, C.T., & Post, J.R., 1997. Field metabolic rates of rainbow trout estimated using electromyogram telemetry. *J. Fish Biol.* **51**(4): 807–823.
- Brodeur, J.C., Dixon, D.G., & McKinly, R. s., 2001. Assessment of cardiac output as a predictor of metabolic rate in rainbow trout. *J. Fish Biol.* **58**(2): 439–452.
- Brodie, S., Taylor, M.D., Smith, J.A., Suthers, I.M., Gray, C.A., & Payne, N.L., 2016. Improving consumption rate estimates by incorporating wild activity into a bioenergetics model. *Ecol. Evol.* **6**(8): 2262–2274.
- Brown, J.H., Gillooly, J.F., Allen, A.P., Savage, V.M., & West, G.B., 2004. Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology* **85**(7): 1771–1789.
- Busch, W.-D.N., Lary, S.J., Castilione, C.M., & McDonald, R.P., 1998. Distribution and availability of Atlantic Coast freshwater habitats for American eel (*Anguilla rostrata*). U.S. Fish and Wildlife Service. *Adm. Rep.* **982**
- Byrnes, E.E., Lear, K.O., Morgan, D.L., & Gleiss, A.C., 2020. Respirometer in a box: development and use of a portable field respirometer for estimating oxygen consumption of large-bodied fishes. *J. Fish Biol.* **96**(4): 1045–1050.

- Campana, S.E., 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **188**: 263–297.
- Carlson, A.K., Fincel, M.J., & Graeb, B.D., 2016. Otolith microchemistry reveals natal origins of walleyes in Missouri River reservoirs. *North Am. J. Fish. Manag.* **36**(2): 341–350.
- Carozza, D.A., Bianchi, D., & Galbraith, E.D., 2019. Metabolic impacts of climate change on marine ecosystems: Implications for fish communities and fisheries. *Glob. Ecol. Biogeogr.* **28**(2): 158–169.
- Chabot, D., Steffensen, J.F., & Farrell, A.P., 2016. The determination of standard metabolic rate in fishes. *J. Fish Biol.* **88**(1): 81–121.
- 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. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **365**: 187–197.
- Chipps, S.R., Clapp, D.F., & Wahl, D.H., 2000. Variation in routine metabolism of juvenile muskellunge: evidence for seasonal metabolic compensation in fishes. *J. Fish Biol.* **56**(2): 311–318.
- Chipps, S.R., & Wahl, D.H., 2008. Bioenergetics modeling in the 21st century: reviewing new insights and revisiting old constraints. *Trans. Am. Fish. Soc.* **137**(1): 298–313.
- Chung, M.-T., Jørgensen, K.-E.M., Trueman, C.N., Knutsen, H., Jorde, P.E., & Grønkjær, P., 2021. First measurements of field metabolic rate in wild juvenile fishes show strong thermal sensitivity but variations between sympatric ecotypes. *Oikos* **130**(2): 287–299.
- Chung, M.-T., Trueman, C.N., Godiksen, J.A., & Grønkjær, P., 2019a. Otolith  $\delta^{13}\text{C}$  values as a metabolic proxy: approaches and mechanical underpinnings. *Mar. Freshw. Res.* **70**(12): 1747.
- Chung, M.-T., Trueman, C.N., Godiksen, J.A., Holmstrup, M.E., & Grønkjær, P., 2019b. Field metabolic rates of teleost fishes are recorded in otolith carbonate. *Commun. Biol.* **2**(1): 24.

- Claireaux, G., & Lagardère, J.-P., 1999. Influence of temperature, oxygen and salinity on the metabolism of the European sea bass. *J. Sea Res.* **42**(2): 157–168.
- Clarke, A., & Johnston, N.M., 1999. Scaling of metabolic rate with body mass and temperature in teleost fish. *J. Anim. Ecol.* **68**(5): 893–905.
- Cooke, S.J., Thorstad, E.B., & Hinch, S.G., 2004. Activity and energetics of free-swimming fish: insights from electromyogram telemetry. *Fish. Fish.* **5**(1): 21–52.
- COSEPAC, 2012. Évaluation et Rapport de situation du COSEPAC sur l’anguille d’Amérique (*Anguilla rostrata*) au Canada. Comité sur la situation des espèces en péril au Canada. Ottawa. Xiii + 127p.
- Côté, C.L., Gagnaire, P.-A., Bourret, V., Verreault, G., Castonguay, M., & Bernatchez, L., 2013. Population genetics of the American eel (*Anguilla rostrata*): F<sub>ST</sub> = 0 and North Atlantic Oscillation effects on demographic fluctuations of a panmictic species. *Mol. Ecol.* **22**(7): 1763–1776.
- Dahlke, F.T., Wohlrab, S., Butzin, M., & Pörtner, H.-O., 2020. Thermal bottlenecks in the life cycle define climate vulnerability of fish. *Science* **369**(6499): 65–70.
- Daverat, F., Tomas, J., Lahaye, M., Palmer, M., & Elie, P., 2005. Tracking continental habitat shifts of eels using otolith Sr/Ca ratios: validation and application to the coastal, estuarine and riverine eels of the Gironde–Garonne–Dordogne watershed. *Mar. Freshw. Res.* **56**(5): 619–627.
- David, C.L., Ji, R., Bouchard, C., Hop, H., & Hutchings, J., 2022. The interactive effects of temperature and food consumption on growth of larval Arctic cod (*Boreogadus saida*): A bioenergetic model. *Elementa*. **10**(1) : 1 -19
- de Lafontaine, Y., Lagacé, M., Gingras, F., Labonté, D., Marchand, F., & Lacroix, E., 2009. Decline of the American eel in the St. Lawrence River: effects of local hydroclimatic conditions on CPUE indices. *Am. Fish. Soc. Symp.* **58**: 207–228.
- Degani, G., Gallagher, M.L., & Meltzer, A., 1989. The influence of body size and temperature on oxygen consumption of the European eel, *Anguilla anguilla*. *J. Fish Biol.* **34**(1): 19–24.



- Dekar, M.P., Magoulick, D.D., & Beringer, J., 2010. Bioenergetics assessment of fish and crayfish consumption by river otter (*Lontra canadensis*): integrating prey availability, diet, and field metabolic rate. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **67**(9): 1439–1448.
- Descolas-Gros, C., & Fontugne, M., 1990. Stable carbon isotope fractionation by marine phytoplankton during photosynthesis. *Plant Cell Environ.* **13**(3): 207–218.
- DeYoung, B., Barange, M., Beaugrand, G., Harris, R., Perry, R.I., Scheffer, M., & Werner, F., 2008. Regime shifts in marine ecosystems: detection, prediction and management. *Trends Ecol. Evol.* **23**(7): 402–409.
- Dorval, E., Piner, K., Robertson, L., Reiss, C.S., Javor, B., & Vetter, R., 2011. Temperature record in the oxygen stable isotopes of Pacific sardine otoliths: Experimental vs. wild stocks from the Southern California Bight. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **397**(2): 136–143.
- Dufour, E., Gerdeaux, D., & Wurster, C.M., 2007. Whitefish (*Coregonus lavaretus*) respiration rate governs intra-otolith variation of  $^{13}\text{C}$  values in Lake Annecy. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **64**(12): 1736–1746.
- Durif, C., 2003. La migration d'avalaison de l'anguille européenne *Anguilla anguilla*: Caractérisation des fractions dévalantes, phénomène de migration et franchissement d'obstacles (PhD Thesis). Université Toulouse. 346 p.
- Durif, C., Dufour, S., & Elie, P., 2005. The silvering process of *Anguilla anguilla*: a new classification from the yellow resident to the silver migrating stage. *J. Fish Biol.* **66**(4): 1025–1043.
- Elsdon, T.S., & Gillanders, B.M., 2002. Interactive effects of temperature and salinity on otolith chemistry: challenges for determining environmental histories of fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **59**(11): 1796–1808.
- Facey, D.E., & Grossman, G.D., 1990. The metabolic cost of maintaining position for four North American stream fishes: effects of season and velocity. *Physiol. Zool.* **63**(4): 757–776.

- Farrell, A.P., 2009. Environment, antecedents and climate change: lessons from the study of temperature physiology and river migration of salmonids. *J. Exp. Biol.* **212**(23): 3771–3780.
- Farrell, A.P., Lee, C.G., Tierney, K., Hodaly, A., Clutterham, S., Healey, M., Hinch, S., & Lotto, A., 2003. Field-based measurements of oxygen uptake and swimming performance with adult Pacific salmon using a mobile respirometer swim tunnel. *J. Fish Biol.* **62**(1): 64–84.
- Fenkes, M., Shiels, H.A., Fitzpatrick, J.L., & Nudds, R.L., 2016. The potential impacts of migratory difficulty, including warmer waters and altered flow conditions, on the reproductive success of salmonid fishes. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* **193**: 11–21.
- Fernandes, J.A., Irigoien, X., Goikoetxea, N., Lozano, J.A., Inza, I., Pérez, A., & Bode, A., 2010. Fish recruitment prediction, using robust supervised classification methods. *Ecol. Model.* **221**(2): 338–352.
- Fidhiany, L., & Winckler, K., 1998. Influence of body mass, age, and maturation on specific oxygen consumption in a freshwater cichlid fish, *Cichlasoma nigrofasciatum* (Guenther, 1869). *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* **119**(2): 613–619.
- Fitzsimons, J.D., Brown, S.B., Brown, L.R., Verreault, G., Tardif, R., Drouillard, K.G., Rush, S.A., & Lantry, J.R., 2013. Impacts of diet on thiamine status of Lake Ontario American eels. *Trans. Am. Fish. Soc.* **142**(5): 1358–1369.
- Francis, R.C., & Campana, S.E., 2004. Inferring age from otolith measurements: a review and a new approach. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **61**(7): 1269–1284.
- Gahagan, B.I., Vokoun, J.C., Whitley, G.W., & Schultz, E.T., 2012. Evaluation of otolith microchemistry for identifying natal origin of anadromous river herring in Connecticut. *Mar. Coast. Fish.* **4**(1): 358–372.
- Gao, Y., Schwarcz, H.P., Brand, U., & Moksness, E., 2001. Seasonal stable isotope records of otoliths from ocean-pen reared and wild cod, *Gadus morhua*. *Environ. Biol. Fishes* **61**(4): 445–453.

- Gauldie, R.W., 1996. Biological factors controlling the carbon isotope record in fish otoliths: Principles and evidence. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* **115**(2): 201–208.
- Gauldie, R.W., Thacker, C.E., & Merrett, N.R., 1994. Oxygen and carbon isotope variation in the otoliths of *Beryx splendens* and *Coryphaenoides profundicolus*. *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol.* **108**(2–3): 153–159.
- Geffen, A.J., 2012. Otolith oxygen and carbon stable isotopes in wild and laboratory-reared plaice (*Pleuronectes platessa*). *Environ. Biol. Fishes* **95**(4): 419–430.
- Gillooly, J.F., Brown, J.H., West, G.B., Savage, V.M., & Charnov, E.L., 2001. Effects of size and temperature on metabolic rate. *Science* **293**(5538): 2248–2251.
- Gingerich, A.J., Philipp, D.P., & Suski, C.D., 2010. Effects of nutritional status on metabolic rate, exercise and recovery in a freshwater fish. *J. Comp. Physiol. B* **180**(3): 371–384.
- Gochfeld, D.J., 1991. Energetics of a predator-prey interaction: corals and coral-feeding fishes. *Pac. Sci.* **45**(3): 246–256
- Godiksen, J.A., Power, M., Borgström, R., Dempson, J.B., & Svenning, M.A., 2012. Thermal habitat use and juvenile growth of Svalbard Arctic charr: evidence from otolith stable oxygen isotope analyses. *Ecol. Freshw. Fish* **21**(1): 134–144.
- Gou, Y., Higuchi, T., Iino, Y., Nagasaka, T., Shimizu, Y., Shirai, K., & Kitagawa, T., 2022. Determination of temperature-dependent otolith oxygen stable isotope fractionation on chum salmon *Oncorhynchus keta* based on rearing experiment. *Front. Mar. Sci.* **9**: 1072068.
- Green, J.A., 2011. The heart rate method for estimating metabolic rate: review and recommendations. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* **158**(3): 287–304.
- Grossman, E.L., & Ku, T.-L., 1986. Oxygen and carbon isotope fractionation in biogenic aragonite: Temperature effects. *Chem. Geol. Isot. Geosci. Sect.* **59**: 59–74.

- Grüss, A., Chagaris, D.D., Babcock, E.A., & Tarnecki, J.H., 2018. Assisting ecosystem-based fisheries management efforts using a comprehensive survey database, a large environmental database, and generalized additive models. *Mar. Coast. Fish.* **10**(1): 40–70.
- Gurney, L.J., Mundy, C., & Porteus, M.C., 2005. Determining age and growth of abalone using stable oxygen isotopes: a tool for fisheries management. *Fish. Res.* **72**(2): 353–360.
- Hall, A.E., & Clark, T.D., 2016. Seeing is believing: metabolism provides insight into threat perception for a prey species of coral reef fish. *Anim. Behav.* **115**: 117–126.
- Han, Y.-S., Tzeng, W.-N., Huang, Y.-S., & Liao, I., 2001. Silvering in the eel: changes in morphology, body fat content, and gonadal development. *J. Taiwan Fish. Res.* **9**(1 & 2): 119–127.
- Hane, Y., Ushikubo, T., Yokoyama, Y., Miyairi, Y., & Kimura, S., 2022. Natal origin of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* determined by SIMS oxygen isotope analysis of otoliths. *PLOS ONE* **17**(8): e0272850.
- Hariato, J., Carey, N., & Byrne, M., 2019. respR—An R package for the manipulation and analysis of respirometry data. *Methods Ecol. Evol.* **10**(6): 912–920.
- Harris, L.A., Duarte, C.M., & Nixon, S.W., 2006. Allometric laws and prediction in estuarine and coastal ecology. *Estuaries Coasts* **29**(2): 340–344.
- Helfman, G.S., Facey, D.E., Hales Jr, L.S., & Bozeman Jr, E.L., 1987. Reproductive ecology of the American eel, in: *Am. Fish. Soc. Symp.* **1**: 42–56.
- Hélie, J.-F., Hillaire-Marcel, C., & Rondeau, B., 2002. Seasonal changes in the sources and fluxes of dissolved inorganic carbon through the St. Lawrence River—isotopic and chemical constraint. *Chem. Geol.* **186**(1–2): 117–138.
- Hesslein, R.H., Capel, M.J., Fox, D.E., & Hallard, K.A., 1991. Stable isotopes of sulfur, carbon, and nitrogen as indicators of trophic level and fish migration in the lower Mackenzie River basin, Canada. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **48**(11): 2258–2265.

- Hettler, W.F., 1976. Influence of temperature and salinity on routine metabolic rate and growth of young Atlantic menhaden. *J. Fish Biol.* **8**(1): 55–65.
- Høie, H., Andersson, C., Folkvord, A., & Karlsen, Ø., 2004. Precision and accuracy of stable isotope signals in otoliths of pen-reared cod (*Gadus morhua*) when sampled with a high-resolution micromill. *Mar. Biol.* **144**(6): 1039–1049.
- Høie, H., Folkvord, A., & Otterlei, E., 2003. Effect of somatic and otolith growth rate on stable isotopic composition of early juvenile cod (*Gadus morhua* L) otoliths. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **289**(1): 41–58.
- Holden, C.V., Kyser, T.K., Longstaffe, F.J., Wang, Y., & Casselman, J.M., 2022. Oxygen isotope fractionation of otoliths formed across the maximum thermal range for somatic growth of the American eel *Anguilla rostrata*. *Chem. Geol.* **591**: 120706.
- Hulbert, A.J., & Else, P.L., 2000. Mechanisms underlying the cost of living in animals. *Annu. Rev. Physiol.* **62**(1): 207–235.
- Iacumin, P., Bianucci, G., & Longinelli, A., 1992. Oxygen and carbon isotopic composition of fish otoliths. *Mar. Biol.* **113**(4): 537–542.
- Jamieson, R.E., 2001. Environmental history of northern cod from otolith isotopic analysis (PhD Thesis). McMaster University.
- Jessop, B.M., 2010. Geographic effects on American eel (*Anguilla rostrata*) life history characteristics and strategies. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **67**(2): 326–346.
- Jessop, B.M., Cairns, D.K., Thibault, I., & Tzeng, W.N., 2008. Life history of American eel *Anguilla rostrata*: new insights from otolith microchemistry. *Aquat. Biol.* **1**(3): 205–216.
- Jessop, B.M., Shiao, J.-C., Iizuka, Y., & Tzeng, W.-N., 2002. Migratory behaviour and habitat use by American eels *Anguilla rostrata* as revealed by otolith microchemistry. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **233**: 217–229.

- Jobling, M., 1981. The influences of feeding on the metabolic rate of fishes: a short review. *J. Fish Biol.* **18**(4): 385–400.
- Johnston, I.A., Clarke, A., & Ward, P., 1991. Temperature and metabolic rate in sedentary fish from the Antarctic, North Sea and Indo-West Pacific Ocean. *Mar. Biol.* **109**(2): 191–195.
- Jones, J., Hunter, E., Hambach, B., Wilding, M., & Trueman, C.N., 2023. Individual variation in field metabolic rates of wild living fish have phenotypic and ontogenetic underpinnings: insights from stable isotope compositions of otoliths. *Front. Ecol. Evol.* **11**: 1161105.
- Junker-Andersen, C., 1988. The eel fisheries of the St. Lawrence Iroquoians. *North Am. Archaeol.* **9**(2): 97–121.
- Kalish, J. M., 1991a.  $^{13}\text{C}$  and  $^{18}\text{O}$  isotopic disequilibria in fish otoliths: metabolic and kinetic effects. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **75**(2–3): 191–203.
- Kalish, J. M., 1991b. Oxygen and carbon stable isotopes in the otoliths of wild and laboratory-reared Australian salmon (*Arripis trutta*). *Mar. Biol.* **110**(1): 37–47.
- Killen, S.S., Christensen, E.A., Cortese, D., Závorka, L., Norin, T., Cotgrove, L., ..., Papatheodoulou, M., 2021. Guidelines for reporting methods to estimate metabolic rates by aquatic intermittent-flow respirometry. *Journal of Experimental Biology* **224**(18): jeb242522.
- Kim, S.-T., O’Neil, J.R., Hillaire-Marcel, C., & Mucci, A., 2007. Oxygen isotope fractionation between synthetic aragonite and water: Influence of temperature and  $\text{Mg}^{2+}$  concentration. *Geochim. Cosmochim. Acta* **71**(19): 4704–4715.
- Kitagawa, T., Ishimura, T., Uozato, R., Shirai, K., Amano, Y., Shinoda, A., Otake, T., Tsunogai, U., & Kimura, S., 2013. Otolith  $\delta^{18}\text{O}$  of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* as an indicator of ambient water temperature. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **481**: 199–209.
- Kooijman, S.A.L.M., 2010. Dynamic energy budget theory for metabolic organisation. Cambridge university press.

- Lambert, Y., & Dutil, J.-D., 2000. Energetic consequences of reproduction in Atlantic cod (*Gadus morhua*) in relation to spawning level of somatic energy reserves. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **57**(4): 815–825.
- Lamprey, D.I., 2020. Seasonal variation in mitochondrial bioenergetics of the bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*, from a shallow Midwest River. (Masters thesis). Eastern Illinois University.
- Le Bris, A., Pershing, A.J., Hernandez, C.M., Mills, K.E., & Sherwood, G.D., 2015. Modelling the effects of variation in reproductive traits on fish population resilience. *ICES J. Mar. Sci.* **72**(9): 2590–2599.
- Lehodey, P., Senina, I., Calmettes, B., Hampton, J., & Nicol, S., 2013. Modelling the impact of climate change on Pacific skipjack tuna population and fisheries. *Clim. Change* **119**: 95–109.
- Little, A.G., Loughland, I. & Seebacher, F., 2020. What do warming waters mean for fish physiology and fisheries? *J. Fish Biol.*, **97**(2): 328-340.
- Macdonald, J.I., & Crook, D.A., 2010. Variability in Sr: Ca and Ba: Ca ratios in water and fish otoliths across an estuarine salinity gradient. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **413**: 147–161.
- Macdonald, J.S., Patterson, D.A., Hague, M.J., & Guthrie, I.C., 2010. Modeling the influence of environmental factors on spawning migration mortality for sockeye salmon fisheries management in the Fraser River, British Columbia. *Trans. Am. Fish. Soc.* **139**(3): 768–782.
- MacGregor, R., Mathers, A., Thompson, P., Casselman, J.M., Dettmers, J.M., LaPan, S., Pratt, T.C., & Allen, B., 2008. Declines of American eel in North America: complexities associated with bi-national management. *Am. Fish. Soc.* **62**: 357–381.
- Malchaire, J., Alfano, F.R.D.A & Palella, B.I., 2017. Evaluation of the metabolic rate based on the recording of the heart rate. *Ind. Health* **55**(3): 219–232.

- Mallekh, R., & Lagardère, J.P., 2002. Effect of temperature and dissolved oxygen concentration on the metabolic rate of the turbot and the relationship between metabolic scope and feeding demand. *J. Fish Biol.* **60**(5): 1105–1115.
- Martino, J.C., Doubleday, Z.A., Chung, M.-T., & Gillanders, B.M., 2020. Experimental support towards a metabolic proxy in fish using otolith carbon isotopes. *J. Exp. Biol.* **223**(6): jeb217091.
- Martins, E.G., Hinch, S.G., Patterson, D.A., Hague, M.J., Cooke, S.J., Miller, K.M., Lapointe, M.F., English, K.K., & Farrell, A.P., 2011. Effects of river temperature and climate warming on stock-specific survival of adult migrating Fraser River sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Glob. Change Biol.* **17**(1): 99–114.
- Matta, M.E., Orland, I.J., Ushikubo, T., Helser, T.E., Black, B.A., & Valley, J.W., 2013. Otolith oxygen isotopes measured by high-precision secondary ion mass spectrometry reflect life history of a yellowfin sole (*Limanda aspera*). *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **27**(6): 691–699.
- McCleave, J.D., 1987. Reproductive sympatry of American and European eels and implications for migration and taxonomy, in: *Am Fish Soc Symp.* pp. 286–297.
- McGrath, K.J., Bernier, J., Ault, S., Dutil, J.-D., & Reid, K., 2002. Differentiating downstream migrating American eels *Anguilla rostrata* from resident eels in the St. Lawrence River. *Biol. Manag. Prot. Catadromous Eels* **33**: 315–327.
- Meka, J.M., & Margraf, F.J., 2007. Using a bioenergetic model to assess growth reduction from catch-and-release fishing and hooking injury in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish. Manag. Ecol.* **14**(2): 131–139.
- Miller, M.J., Westerberg, H., Sparholt, H., Wysujack, K., Sørensen, S.R., Marohn, L., Jacobsen, M.W., Freese, M., Ayala, D.J., & Pohlmann, J.-D., 2019. Spawning by the European eel across 2000 km of the Sargasso Sea. *Biol. Lett.* **15**(4): 20180835.
- Milton, D.A., Chenery, S.R., Farmer, M.J., & Blaber, S.J., 1997. Identifying the spawning estuaries of the tropical shad, *terubok Tenualosa toli*, using otolith microchemistry. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **153**: 283–291.



- Minke-Martin, V., Brian Dempson, J., Sheehan, T.F., & Power, M., 2015. Otolith-derived estimates of marine temperature use by West Greenland Atlantic salmon (*Salmo salar*). *ICES J. Mar. Sci.* **72**(7): 2139–2148.
- Mochnac, N.J., Kissinger, B.C., Deslauriers, D., Guzzo, M.M., Enders, E.C., Anderson, W.G., Docker, M.F., Isaak, D.J., Durhack, T.C., & Treberg, J.R., 2017. Development and testing of a simple field-based intermittent-flow respirometry system for riverine fishes. *Conserv. Physiol.* **5**(1): cox048.
- Moyano, M., Illing, B., Polte, P., Kotterba, P., Zablotki, Y., Gröhsler, T., Hüdepohl, P., Cooke, S.J., & Peck, M.A., 2020. Linking individual physiological indicators to the productivity of fish populations: a case study of Atlantic herring. *Ecol. Indic.* **113**: 106146.
- Mulcahy, S.A., Killingley, J.S., Phleger, C.F., & Berger, W.H., 1979. Isotopic composition of otoliths from a benthopelagic fish, *Coryphaenoides-acrolepis*, macrouridae, gadiformes. *Oceanol. Acta* **2**(4): 423–427.
- Murchie, K.J., Cooke, S.J., Danylchuk, A.J., & Suski, C.D., 2011. Estimates of field activity and metabolic rates of bonefish (*Albula vulpes*) in coastal marine habitats using acoustic tri-axial accelerometer transmitters and intermittent-flow respirometry. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **396**(2): 147–155.
- Negus, M.T., 1995. Bioenergetics modeling as a salmonine management tool applied to Minnesota waters of Lake Superior. *North Am. J. Fish. Manag.* **15**(1): 60–78.
- Nelson, C.S., Northcote, T.G., & Hendy, C.H., 1989. Potential use of oxygen and carbon isotopic composition of otoliths to identify migratory and non-migratory stocks of the New Zealand common smelt: A pilot study. *N. Z. J. Mar. Freshw. Res.* **23**(3): 337–344.
- Nelson, J.A., 2016. Oxygen consumption rate v. rate of energy utilization of fishes: a comparison and brief history of the two measurements. *J. Fish Biol.* **88**(1): 10–25.
- Ney, J.J., 1993. Bioenergetics modeling today: growing pains on the cutting edge. *Trans. Am. Fish. Soc.* **122**(5): 736–748.

- Norin, T., & Clark, T.D., 2016. Measurement and relevance of maximum metabolic rate in fishes. *J. Fish Biol.* **88**(1): 122–151.
- Norin, T., Malte, H., & Clark, T.D., 2016. Differential plasticity of metabolic rate phenotypes in a tropical fish facing environmental change. *Funct. Ecol.* **30**(3): 369–378.
- Ohlberger, J., Staaks, G., & Hölker, F., 2007. Estimating the active metabolic rate (AMR) in fish based on tail beat frequency (TBF) and body mass. *J. Exp. Zool. Part Ecol. Genet. Physiol.* **307A**(5): 296–300.
- Palacios-Abrantes, J., Frölicher, T.L., Reygondeau, G., Sumaila, U.R., Tagliabue, A., Wabnitz, C.C.C., & Cheung, W.W.L., 2022. Timing and magnitude of climate-driven range shifts in transboundary fish stocks challenge their management. *Glob. Change Biol.* **28**(7): 2312–2326.
- Park, R., & Epstein, S., 1960. Carbon isotope fractionation during photosynthesis. *Geochim Cosmochim Acta* **21**.
- Payan, P., De Pontual, H., Bœuf, G., & Mayer-Gostan, N., 2004. Endolymph chemistry and otolith growth in fish. *Comptes Rendus Palevol*, **3**(6): 535–547.
- Payne, N.L., Gillanders, B.M., Seymour, R.S., Webber, D.M., Snelling, E.P., & Semmens, J.M., 2011. Accelerometry estimates field metabolic rate in giant Australian cuttlefish *Sepia apama* during breeding. *J. Anim. Ecol.* **80**(2): 422–430.
- Perry, A.L., Low, P.J., Ellis, J.R., & Reynolds, J.D., 2005. Climate change and distribution shifts in marine fishes. *Science* **308**(5730): 1912–1915.
- Phillis, C.C., Ostrach, D.J., Ingram, B.L., & Weber, P.K., 2011. Evaluating otolith Sr/Ca as a tool for reconstructing estuarine habitat use. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **68**(2): 360–373.
- Popper, A.N., & Fay, R.R., 2011. Rethinking sound detection by fishes. *Hear. Res., Comparative Studies of the Ear* **273**(1): 25–36.

- Pörtner, H.-O., Roberts, D.C., Tignor, M., Poloczanska, E.S., Mintenbeck, K., Alegría, A., Craig, M., Langsdorf, S., Löschke, S., Möller, V., Okem, A., & Rama, B., 2022. Climate Change 2022: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA.
- Pujolar, J.M., Bertolini, F., & Jacobsen, M.W., 2022. Footprints of natural selection in north Atlantic Eels: a review. *Fishes* **7**(6): 311.
- Robinson, W.R., Peters, R.H., & Zimmermann, J., 1983. The effects of body size and temperature on metabolic rate of organisms. *Can. J. Zool.* **61**(2): 281–288.
- Romanek, C.S., Grossman, E.L., & Morse, J.W., 1992. Carbon isotopic fractionation in synthetic aragonite and calcite: Effects of temperature and precipitation rate. *Geochim. Cosmochim. Acta* **56**(1): 419–430.
- Rowell, K., Dettman, D.L., & Dietz, R., 2010. Nitrogen isotopes in otoliths reconstruct ancient trophic position. *Environ. Biol. Fishes* **89**(3): 415–425.
- RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>
- Schaner, T., Patterson, W.P., Lantry, B.F., & O’Gorman, R., 2007. Distinguishing wild vs. stocked lake trout (*Salvelinus namaycush*) in Lake Ontario: evidence from carbon and oxygen stable isotope values of otoliths. *J. Gt. Lakes Res.* **33**(4): 912–916.
- Schloesser, R.W., Neilson, J.D., Secor, D.H., & Rooker, J.R., 2010. Natal origin of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) from Canadian waters based on otolith  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$ . *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **67**(3): 563–569.
- Schmidt, J., 1925. The breeding places of the eel. *Ann Rep. Smithsonian Inst* **1924**: 279–316.
- Schoth, M., & Tesch, F.-W., 1982. Spatial distribution of 0-group eel larvae (*Anguilla sp.*) in the Sargasso Sea. *Helgoländer Meeresunters.* **35**(3): 309–320.

- Schwarcz, H.P., Gao, Y., Campana, S., Browne, D., Knyf, M., & Brand, U., 1998. Stable carbon isotope variations in otoliths of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **55**(8): 1798–1806.
- Scott, W.B., & Crossman, E.J., 1985. Poissons d'eau douce du Canada. Ministère de l'environnement, Service des pêches et des sciences de la mer. **184**
- Sherwood, G.D., & Rose, G.A., 2003. Influence of swimming form on otolith  $\delta^{13}\text{C}$  in marine fish. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **258**: 283–289.
- Shirai, K., Otake, T., Amano, Y., Kuroki, M., Ushikubo, T., Kita, N.T., Murayama, M., Tsukamoto, K., & Valley, J.W., 2018. Temperature and depth distribution of Japanese eel eggs estimated using otolith oxygen stable isotopes. *Geochim. Cosmochim. Acta* **236**: 373–383.
- Sirot, C., Grønkjær, P., Pedersen, J.B., Panfili, J., Zetina-Rejon, M., Tripp-Valdez, A., Ramos-Miranda, J., Flores-Hernandez, D., Sosa-Lopez, A., & Darnaude, A.M., 2017. Using otolith organic matter to detect diet shifts in *Bardiella chrysoura*, during a period of environmental changes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **575**: 137–152.
- Smith, M.W., & Saunders, J.W., 1955. The American eel in certain fresh waters of the Maritime Provinces of Canada. *J. Fish. Res. Board Can.* **12**(2): 238–269.
- Solomon, C.T., Weber, P.K., Jr., Joseph J. Cech, Ingram, B.L., Conrad, M.E., Machavaram, M.V., Pogodina, A.R., & Franklin, R.L., 2006. Experimental determination of the sources of otolith carbon and associated isotopic fractionation. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **63**(1): 79–89.
- Steffensen, J.F., 2005. Respiratory systems and metabolic rates. *Fish Physiol.* **22**: 203–238.
- Steinhausen, M.F., Steffensen, J.F., & Andersen, N.G., 2005. Tail beat frequency as a predictor of swimming speed and oxygen consumption of saithe (*Pollachius virens*) and whiting (*Merlangius merlangus*) during forced swimming. *Mar. Biol.* **148**(1): 197–204.

- Svendsen, M.B.S., Christensen, E.A. and Steffensen, J.F., 2017. To scale or not to scale: a perspective on describing fish energy budgeting. *Conservation Physiology*, 5(1), p.cox056.
- Tagliabue, A., & Bopp, L., 2008. Towards understanding global variability in ocean carbon-13. *Glob. Biogeochem. Cycles* 22(1): GB1025.
- Tanner, S.E., Vieira, A.R., Vasconcelos, R.P., Dores, S., Azevedo, M., Cabral, H.N., & Morrongiello, J.R., 2019. Regional climate, primary productivity and fish biomass drive growth variation and population resilience in a small pelagic fish. *Ecol. Indic.* 103: 530–541.
- Tesch, F.W., 1977. *The eel: biology and management of anguillid eels*. Wiley.
- Tesch, F.-W., & Bartsch, P., 2003. *The eel*. Wiley.
- Thorrold, S.R., Campana, S.E., Jones, C.M., & Swart, P.K., 1997. Factors determining  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  fractionation in aragonitic otoliths of marine fish. *Geochim. Cosmochim. Acta* 61(14): 2909–2919.
- Tiwari, M., Singh, A.K., & Sinha, D.K., 2015. *Stable isotopes: Tools for understanding past climatic conditions and their applications in chemostratigraphy*. Chemostr. Elsevier. 65–92.
- Tohse, H., & Mugiya, Y., 2008. Sources of otolith carbonate: experimental determination of carbon incorporation rates from water and metabolic  $\text{CO}_2$ , and their diel variations. *Aquat. Biol.* 1: 259–268.
- Treberg, J.R., Killen, S.S., MacCormack, T.J., Lamarre, S.G., & Enders, E.C., 2016. Estimates of metabolic rate and major constituents of metabolic demand in fishes under field conditions: Methods, proxies, and new perspectives. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 202: 10–22.
- Tremblay, V., 2009. Reproductive strategy of female American eels among five subpopulations in the St. Lawrence River watershed, in: *Eels Edge Sci. Status Conserv. Concerns Am. Fish. Soc. Symp.* 58: 85–102.

- Van Der Walt, B., & Faragher, R.A., 2003. Otolith marking of rainbow trout fry by immersion in low concentrations of alizarin complexone. *North American Journal of Fisheries Management* **23**(1): 141–148.
- Van Leeuwen, T.E., Rosenfeld, J.S., & Richards, J.G., 2012. Effects of food ration on SMR: influence of food consumption on individual variation in metabolic rate in juvenile coho salmon (*Onchorhynchus kisutch*). *J. Anim. Ecol.* **81**(2): 395–402.
- van Poorten, B.T., & Walters, C.J., 2010. Estimation of bioenergetics parameters for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using capture-recapture data with comparison to estimates from a laboratory-based model. *Open Fish Sci. J.* **3**(1): 69-79.
- Verreault, G., Dumont, P., & Mailhot, Y., 2004. Habitat losses and anthropogenic barriers as a cause of population decline for American eel (*Anguilla rostrata*) in the St. Lawrence watershed, Canada. *Int. Counc. Explor. Sea CM Doc.* 12 pp.
- Wardle, C.S., 1975. Limit of fish swimming speed. *Nature* **255**(5511): 725–727.
- Warren-Myers, F., Dempster, T., & Swearer, S.E., 2018. Otolith mass marking techniques for aquaculture and restocking: benefits and limitations. *Rev Fish Biol Fisheries* **28**(3): 485–501.
- Webb, P.W., 1984. Form and function in fish swimming. *Sci. Am.* **251**(1): 72–83.
- Weidel, B.C., Carpenter, S.R., Kitchell, J.F., & Vander Zanden, M.J., 2011. Rates and components of carbon turnover in fish muscle: insights from bioenergetics models and a whole-lake <sup>13</sup>C addition. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **68**(3): 387–399.
- Willmes, M., Lewis, L.S., Davis, B.E., Loisel, L., James, H.F., Denny, C., Baxter, R., Conrad, J.L., Fangue, N.A., & Hung, T.-C., 2019. Calibrating temperature reconstructions from fish otolith oxygen isotope analysis for California’s critically endangered Delta Smelt. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **33**(14): 1207–1220.
- Wong, W.W., & Sackett, W.M., 1978. Fractionation of stable carbon isotopes by marine phytoplankton. *Geochim. Cosmochim. Acta* **42**(12): 1809–1815.

- Wright, R.M., Piper, A.T., Aarestrup, K., Azevedo, J., Cowan, G., Don, A., Gollock, M., Rodriguez Ramallo, S., Velterop, R., & Walker, A., 2022. First direct evidence of adult European eels migrating to their breeding place in the Sargasso Sea. *Sci. Rep.* **12**(1): 1–6.
- Wurster, C.M., & Patterson, W.P., 2003. Metabolic rate of late Holocene freshwater fish: evidence from  $\delta^{13}\text{C}$  values of otoliths. *Paleobiology* **29**(4): 492–505.
- Wysujack, K., Westerberg, H., Aarestrup, K., Trautner, J., Kurwie, T., Nagel, F., & Hanel, R., 2014. The migration behaviour of European silver eels (*Anguilla anguilla*) released in open ocean conditions. *Marine and Freshwater Research* **66**(2): 145–157.
- Yang, C., Telmer, K., & Veizer, J., 1996. Chemical dynamics of the “St. Lawrence” riverine system:  $\delta\text{D}\text{H}_2\text{O}$ ,  $\delta^{18}\text{O}\text{H}_2\text{O}$ ,  $\delta^{13}\text{C}\text{DIC}$ ,  $\delta^{34}\text{S}\text{sulfate}$ , and dissolved  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ . *Geochim. Cosmochim. Acta* **60**(5): 851–866.
- Young, J.L., Bornik, Z.B., Marcotte, M.L., Charlie, K.N., Wagner, G.N., Hinch, S.G., & Cooke, S.J., 2006. Integrating physiology and life history to improve fisheries management and conservation. *Fish Fish.* **7**(4): 262–283.
- Zweifel, R.D., Landis, A.M.G., Hale, R.S., & Stein, R.A., 2010. Development and evaluation of a bioenergetics model for saugeye. *Trans. Am. Fish. Soc.* **139**(3): 855–867.

