



**Expériences 97 sur l'influence des  
sédiments du bassin d'élevage sur la  
physiologie de *Penaeus stylirostris***



Centre Océanologique du Pacifique

B.P. 7004 - 98719 TARAFAO - TAHITI - Polynésie Française  
Tél. 54 60 00 - Télécopie : (689) 54 60 99

Laboratoire d'Aquaculture Tropicale  
Centre Océanologique du Pacifique  
BP 7004 Taravao  
Tahiti  
Polynésie Française

Laboratoire de Recherche Aquacole  
Station d'Aquaculture de Saint-Vincent  
BP 2059 Nouméa Cédex  
Nouvelle Calédonie

# **Expériences 97 sur l'influence des sédiments du bassin d'élevage sur la physiologie de *Penaeus stylirostris***

*Rapport des travaux menés  
du 22 février au 7 mars 1997 à la Station de Saint Vincent  
et du 7 au 20 juin 1997 au Centre Océanologique du Pacifique  
par*

J.C.Cochard  
H. Lemonnier  
E. Bernard  
E. Boglio  
C. Goarant

Type de rapport : RST	
Numéro d'identification du rapport : <u>DRV/AQ/TAH 97.42</u>  Diffusion : libre <del>restreinte</del> interdite Validé par :  Adresse électronique : - chemin UNIX :  - adresse WWW :	date de publication aout 1997 nombre de pages  bibliographie (Oui / Non)  illustration(s) (Oui )  langue du rapport Français
Titre et sous-titre du rapport : Expériences 97 sur l'influence des sédiments du bassin d'élevage sur la physiologie de <i>Penaeus stylirostris</i> <i>Rapport des travaux menés du 22 février au 7 mars 1997 à la Station de Saint Vincent et du 7 au 20 juin 1997 au Centre Océanologique du Pacifique</i>  Titre traduit : Year 1997 experiences on the influence of rearing pond sediments on the physiology of <i>Penaeus stylirostris</i>	
Auteur(s) principal(aux) : nom, prénom  COCHARD Jean Claude	Organisme / Direction / Service, laboratoire  IFREMER / DRV / RA / LAT
Collaborateur(s) : nom, prénom LEMONNIER Hugues BERNARD Eric BOGLIO Eric GOARANT Cyrille	Organisme / Direction / Service, laboratoire IFREMER / DRV / RA / SASV IFREMER / DRV / RA / SASV IFREMER / DRV / RA / SASV IFREMER / DRV / RA / SASV
Organisme commanditaire : nom développé, sigle, adresse	
Titre du contrat :	n° de contrat Ifremer
Organisme(s) réalisateur(s) : nom(s) développé(s), sigle(s), adresse(s)	
Responsable scientifique :	
Cadre de la recherche : Programme :	Convention :
Projet :	Autres (préciser) :
Campagne océanographique : (nom de campagne, année, nom du navire)	

**Résumé :**

- Les crevettes pénéides maintenues captives dans des cages posées sur le fond des bassins d'élevage subissent un stress dû au sédiment qui peut être évalué par la comparaison entre la valeur de la pression osmotique de leur hémolymphe et celle des crevettes libres du même bassin. Les objectifs des travaux réalisés à la station de Saint-Vincent (SASV, Nouvelle Calédonie) étaient de confirmer la variabilité spatiale de l'intensité du stress et de rechercher dans les sédiments un indicateur physique ou chimique corrélé à ce stress.

Des lots de 25 à 30 crevettes de 13,2g, pêchées à l'épervier, ont été placés dans des cages de grillage métallique déposées en 12 points du bassin d'élevage. Les cages ont été relevées au bout de 24 heures et la pression osmotique des crevettes au stade d'inter-mue C comparée à celles d'individus libres pêchés le même jour. L'expérience ayant été renouvelée 4 fois, le plan expérimental était constitué de 4 blocs de 12 cages.

Les caractéristiques du sédiment ont été étudiées sur deux séries de mesures in situ (pH de l'eau interstitielle, potentiel d'oxydoréduction) ou de prélèvements (matière sèche, taux de matière organique, teneur en azote ammoniacal) réalisés à proximité immédiate du point de dépôt des cages. L'étude révèle l'existence d'un gradient significatif d'intensité du stress chez les crevettes captives, elle a permis de détecter une corrélation linéaire très significative entre le pH de surface des sédiments et la capacité osmorégulatrice des crevettes.

Ces observations ont été confirmées par une étude expérimentale réalisée à Tahiti au Centre Océanologique du Pacifique. -

**Mots-clés :**

*Penaeus stylirostris*, capacité osmorégulatrice, stress, sédiment, aquaculture, Crustacés, crevettes pénéides, pH

**Commentaire :**

# DIFFUSION

## Exemplaires

- DRV/D	1
- DRV/RA/D	1
- DS	1
- Délégation IFREMER en Nouvelle-Calédonie	1
- Délégation IFREMER à la Réunion	1
- Délégation IFREMER en Guyane	1
- Brest - Bibliothèque	2
- Nantes - Bibliothèque	2

### Comité de Direction R.A.

- J. MAZURIE (R.A. La Trinité)	1
- J.L. MARTIN (COP)	1
- M. HERAL (CREMA)	1
- J.L. GAIGNON (R.A. Brest)	1
- H. GRIZEL (R.A. Sète)	1
- G. BOEUF	1
- A. GERARD	1
- R. KERAS	1
- J.L. MARTIN (CREMA)	1

### Laboratoires R.A.

- Laboratoire Conchylicole de Normandie (Port-en-Bessin)	1
- Unité Mixte INRA/IFREMER Nutrition (Brest)	1
- Laboratoire de Physiologie des Invertébrés (Brest)	1
- Laboratoire de Physiologie et Zootechnie des Poissons (Brest)	1
- Laboratoire Conchylicole de Bretagne (La Trinité)	1
- Laboratoire d'Algologie (Nantes)	1
- Laboratoire Conchylicole de Pays de Loire (Bouin)	1
- Laboratoire Conchylicole de Charente-Poitou (La Tremblade)	1
- Laboratoire Génétique Aquaculture Pathologie (La Tremblade)	1
- CREMA (L'Houmeau)	1
- DRIM (Montpellier)	1
- Laboratoire Conchylicole de Méditerranée (Palavas)	1
- Laboratoire MEREA (Palavas)	1
- Laboratoire Aquacole de la Martinique	1
- Laboratoire Aquacole de Nouvelle-Calédonie	1

## URM

- URM n°9 - Professeur TRILLES - Montpellier 1
- URM n°16 - Professeur F. BONHOMME - Montpellier 1
- URM n°14 - Professeur VAN WORMHOUDT - Concarneau 1

## COFREPECHE

- Brest 1

## EXTERIEUR

- M. AUTRAND, Ingénieur Conseil 1
- SEPIA-CONSEIL 1
- LTDV Nouvelle-Calédonie 1
- CENAIM (E. MIAHLE) 1
- J.C. MASSABUAU 1

## IFREMER/Tahiti

- AQUACOP 9
- Bibliothèque 2
- Minute 1

## Tahiti

- EVAAM - Papeete 1
- EVAAM - EPT 1
- UFP, laboratoire d'Ecologie Marine (C. PAYRI) 1
- UFP, laboratoire de Biologie Cellulaire (B. MARTIN) 1
- UFP, Professeur C. HERBAUT 1
- ORSTOM 1
- Museum d'Histoire Naturelle, EPHE, antenne de Moorea 1
- Professeur R. BAGNIS, Chargé de Mission pour la Recherche 1
- Délégation Territoriale à la Recherche 1

# SOMMAIRE

---

<b>1. INTRODUCTION</b> .....	1
<b>2. MATERIEL ET METHODES</b> .....	1
<b>2.1. Principe de l'expérimentation de terrain</b> .....	1
2.1.1. Résultats préalables acquis au COP .....	1
2.1.2. Expériences réalisées en Nouvelle Calédonie en 1995 .....	1
2.1.3. Protocole expérimental de l'expérimentation de terrain .....	2
2.1.4. Les prélèvements d'hémolymphe .....	3
2.1.5. Mesure de la pression osmotique de l'hémolymphe .....	3
2.1.6. Caractérisation physique et chimique des sédiments .....	4
<b>2.2. Expérimentation en laboratoire (COP)</b> .....	4
2.2.1. Principe expérimental .....	4
<b>3. RESULTATS</b> .....	5
<b>3.1. Expérience in situ</b> .....	5
3.1.1. Pression osmotique .....	5
3.1.2. Caractéristiques des sédiments .....	10
3.1.3. Étude des corrélations .....	12
<b>3.2. Étude in vitro de l'effet du pH sur la pression osmotique</b> .....	15
<b>4. DISCUSSION</b> .....	16
<b>5. PERSPECTIVES</b> .....	18

## 1. Introduction

Les travaux menés au cours de cette mission font suite aux observations réalisées en novembre 1995 sur la variabilité spatiale de la toxicité des boues de fond de bassin d'élevage de *Penaeus stylirostris*.

Au cours de cette mission, il avait été constaté que des crevettes confinées dans des cages posées au fond du bassin subissaient un stress mesuré par la baisse de leur capacité osmorégulatrice se traduisant par une augmentation de la pression osmotique de l'hémolymphe. L'intensité de ce stress variait en fonction de la position de la cage dans le bassin. Il avait été partiellement responsable du déclenchement d'une pathologie de type Syndrome 93, mais il n'avait pas été possible d'établir des corrélations significatives entre les paramètres physiques et chimiques caractérisant les boues et l'augmentation de la pression osmotique de l'hémolymphe.

L'objectif de l'expérience a donc été de mesurer l'effet des boues sur la pression osmotique des crevettes et d'établir des corrélations entre la dépression de la PO et les paramètres physiques et chimiques des boues.

Ce travail a été réalisé au cours d'une mission réalisée par J.C. Cochard en Nouvelle Calédonie du 22 février au 7 mars 1997. Il a été complété par un test réalisé au COP en Juin 1997.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Principe de l'expérimentation de terrain

#### 2.1.1. Résultats préalables acquis au COP

La capacité osmorégulatrice est définie comme l'aptitude à maintenir un fort gradient de pression osmotique entre le milieu interne et le milieu ambiant. Chez la crevette *P. stylirostris* qui est un puissant régulateur euryhalin, la pression osmotique de l'hémolymphe est maintenue pratiquement constante lorsque la pression osmotique du milieu varie entre 200mosm/kg et 1400mosm/kg. Cette capacité osmorégulatrice est un indicateur de l'état physiologique des crevettes. Des perturbations de nature très diverses (manipulations, hypoxie, pollutions chimiques,...) provoquent une dépression de la CO dont l'importance varie avec l'intensité du stress.

La capacité osmorégulatrice des crevettes confinées dans des enceintes grillagées posées sur un fond dur ou oxydé n'est pas modifiée de façon statistiquement mesurable pendant les premières 48 heures de confinement (aux risques  $\alpha = 0,05$  et  $\beta = 0,10$  pour  $n = 10$  à 15 individus). En revanche, sur des fonds meubles réduits une dépression significative de la capacité osmorégulatrice a été observée pour des lots de plus de 8 individus au stade d'intermue C. Les lots étaient constitués de 20 individus, ce nombre permet en général d'obtenir 10 à 12 individus stade C soit une puissance expérimentale de 0,90.

#### 2.1.2. Expériences réalisées en Nouvelle Calédonie en 1995

Les animaux ont été placés dans des poches ostréicoles préformées de 8 mm de vide de maille lestées et renforcées par un écarteur de bois. Les lests étaient constitués d'un demi tube de PVC de 10 cm rempli de béton fixé à l'intérieur de la poche et d'un tube de PVC Ø 32 rempli de béton lui aussi et fixé sur la poche. Ces enceintes expérimentales étaient



posées sur le fond du bassin, les crevettes étaient donc en contact direct avec le sol du bassin à travers la maille.

Deux expériences ont été menées. La première d'entre elles a été perturbée par le développement d'une pathologie de type « Syndrome 93 » probablement due au stress provoqué par la mise en place trop rapide des cages. Ce défaut ayant été corrigé, une deuxième expérience (4 blocs de 5 cages) a permis de démontrer que le stress provoqué par le confinement en cage variait en fonction du lieu de dépôt de la cage. En revanche ce protocole ne permettait pas d'établir des corrélations entre le stress et les paramètres physiques et chimiques caractérisant les boues.

### 2.1.3. Protocole expérimental de l'expérimentation de terrain

Le protocole de mesure suivi en 1995 a subi quelques modifications afin d'en augmenter la puissance expérimentale.

- Les cages ont été placées en 12 points du bassin et relevées au bout de 24 heures environ.
- Quatre séries de mesures ont été réalisées au cours des deux semaines de la mission. Le plan expérimental était donc de 4 blocs (A, B, C, D) de 12 cages (numérotées de 1 à 12). Pour chaque bloc les données ont été analysées en référence à 2 témoins libres prélevés à l'épervier, le premier le matin le second au cours de l'après-midi.
- L'ordre de mise à l'eau des cages et celui du relevage ont été déterminés à l'aide d'une table de permutation aléatoire.
- Les poches ostréicoles préformées lestées, ont été remplacées par des cages en grillage de métal galvanisé de 100x50x15cm ne contenant aucun corps étranger susceptible de gêner les animaux (lors de la précédente mission, le lest et un écarteur étaient placés à l'intérieur des poches ostréicoles pour en maintenir la forme).
- Les crevettes étaient capturées à l'épervier depuis la berge à la plus faible distance possible du point de dépôt de chaque cage. Les crevettes étaient recueillies dans une baille contenant une trentaine de litre d'eau prélevée à proximité et immédiatement placées dans les cages expérimentales.

Un même nombre de crevettes a été placé dans chaque cage. De 20 crevettes lors de la première série, ce nombre a été porté à 30 afin de tenir compte de la faible proportion des crevettes aux stades C et D<sub>0</sub> (pic de mue). Les cages refermées ont été transportées à pied, constamment immergées, vers le lieu de dépôt.

L'expérience a été menée dans le même bassin de 1 hectare que lors de la mission précédente (N°8), les crevettes étaient de taille comparable (13,2g ± 1,9). L'opération de mise en place des cages n'a pas dépassé deux heures.

Les cages ont été relevées une par une après environ 24 heures à raison d'une cage toutes les 45 minutes environ. La durée du confinement a donc varié de façon aléatoire de 22 à 28 heures suivant les points étudiés.

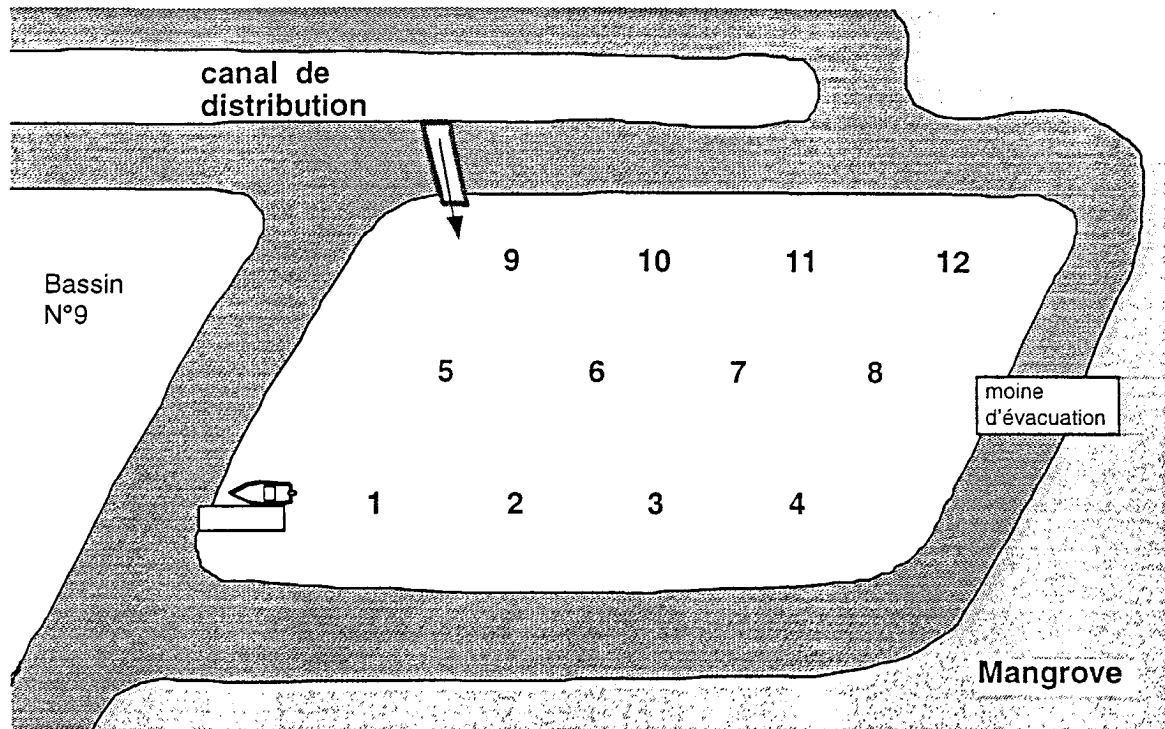


Figure. 2 - Schéma précisant la disposition des cages dans le bassin d'élevage.

#### 2.1.4. Les prélèvements d'hémolymphe

Les crevettes récupérées dans les cages ont été placées dans une baille contenant environ 30 l d'eau de mer fraîchement recueillie dans le bassin d'élevage. Elles ont aussitôt été transportées au laboratoire où un système d'aération par bullage d'air a immédiatement été installé. Le délai entre la récupération des cages et le début des prélèvements d'hémolymphe n'a jamais excédé une demi-heure.

Le stade d'intermue de chaque individu a été contrôlé au microscope sur une partie de l'uropode. Seuls les sujets aux stades C et D0 ont été ponctionnés.

Les prélèvements d'hémolymphe ont été pratiqués par insertion ventrale d'une aiguille de 0,45 mm montée sur une seringue hypodermique de 1 ml de volume, au niveau des lacunes hémolympatiques de la base des derniers péréiopodes.

#### 2.1.5. Mesure de la pression osmotique de l'hémolymphe

Les mesures de pression osmotique des hémolymphe et des milieux d'élevage ont été réalisées à l'aide d'un osmomètre WESCOR 5500 à tension de vapeur. Celui-ci permet des mesures précises sur des échantillons de 10  $\mu$ l seulement. Il mesure l'abaissement de la tension de vapeur d'une solution par rapport à la tension de vapeur théorique du solvant pur. Après une augmentation de température provoquant la vaporisation du liquide, la condensation de cette vapeur (la baisse de température est obtenue par effet Pelletier) sur un thermocouple permet de déterminer le point de rosée et donc la pression osmotique de la solution. L'appareil donne en lecture directe la pression osmotique en mOsmol/kg du liquide introduit dans l'osmomètre.

### 2.1.6. Caractérisation physique et chimique des sédiments

Le sédiment sur lequel reposaient les cages a été caractérisé par des mesures et des prélèvements réalisés en plongée au début de la première série et de la troisième à proximité immédiate des piquets marquant le lieu de dépôt des cages.

Le potentiel d'oxydoréduction a été déterminé in situ à l'aide d'une électrode spécifique Schott PT 5700 sur l'horizon 0-1 cm. Le pH de l'eau interstitielle a été mesuré en plongeant l'électrode (Cofralab PT 5700 A) à la surface de la carotte de sédiment dès la sortie de l'eau.

Le premier centimètre du sédiment a ensuite été récupéré pour différentes analyses :

- la teneur en eau a été déterminée par différence de poids après dessiccation à 60°C pendant 7 jours, elle est exprimée par rapport au poids du sédiment humide ;
- la teneur en matière organique a été déterminée par crémation au four à moufle pendant 5 heures à 550 °C. Le résultat est exprimé par rapport au poids sec.

Afin de doser les concentrations en azote ammoniacal dans l'eau interstitielle du sédiment, les échantillons ont été centrifugés à 2000g pendant 30mn. Le surnageant était ensuite récupéré et analysé par dosage colorimétrique suivant la méthode de Koroleff adaptée aux mesures automatiques en flux continu (Autoanalyser Technicon) par Tréguer et Le Corre.

## 2.2. Expérimentation en laboratoire (COP)

### 2.2.1. Principe expérimental

L'expérience a été réalisée en deux blocs successifs sur six lots de 8 crevettes qui ont été soumises pendant 24 heures à 5 niveaux de pH compris entre 6,0 et 8,0 un lot témoin contenait de l'eau de mer non traitée (pH = 8,2). Elle a été menée en salle thermorégulée à 26°C dans des bacs de 70 l en circuit fermé d'eau de mer (36-37‰) sans filtration biologique et sous aération constante. Les crevettes (souche SPR 43) de 19 g de poids moyen avaient été élevées au COP, elles ont été pêchées à l'épervier la veille de l'expérience. Après sélection des seuls individus en stade d'intermue C, elles ont été réparties dans des cages grillagées dans une seconde série de bacs de 70 l contenant de l'eau de mer normale sous aération constante pendant environ 24 heures afin de récupérer du stress de la capture. Au temps T0 du stress elles ont été délicatement transférées dans les bacs expérimentaux dont le pH avait été ajusté au niveau requis à l'aide d'un mélange de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  et  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (tampon phosphate 10 mMolaire en concentration finale)

Le pH a été contrôlé toutes les heures et éventuellement corrigé à l'aide de NaOH (1N) ou HCl (0,1N). Un échantillon destiné à l'évaluation de la concentration d'ammoniaque a été réalisé toutes les 6 heures.

Au bout de 24 h, la pression osmotique de chaque animal au stade C a été mesurée comme décrit précédemment, l'ordre de traitement des bacs a été déterminé au hasard.

### 3. Résultats

#### 3.1. Expérience in situ

##### 3.1.1. Pression osmotique

Les quatre séries de l'expérience n'ont pas provoqué l'apparition du syndrome 93. La survie moyenne a été de 79 % ( $s = \pm 12\%$ ), elle ne variait pas significativement en fonction du lieu de dépôt des cages ( $F_{11/36} = 0,66$ ,  $p = 0,77$ ).

Les résultats des mesures de pression osmotique sont présentés dans le tableau 1 et la figure 2. L'analyse de variance à deux facteurs (tableau 2) met en évidence un effet hautement significatif du jour de prélèvement, de la cage ainsi qu'une interaction hautement significative. Les crevettes maintenues en captivité ont subi une dépression significative de leur capacité osmorégulatrice qui dépend du lieu de dépôt de la cage. La comparaison des moyennes par PLSD (tableau 3) montre que tous les lots maintenus en cage ont une pression osmotique significativement plus forte que celle des témoins, certaines cages provoquent une augmentation significativement plus forte que les autres.

Tableau 1 - Pression osmotique moyenne de l'hémolymphe des crevettes confinées pendant 24 heures dans des cages posées en différents points du bassin N°8 de la SASV et de témoins capturés dans le même bassin immédiatement avant la mesure le matin (T 1) et l'après-midi (T 2).

Jour Cage	Bloc A		Bloc B		Bloc C		Bloc D	
	Moy. $\pm s$	n.	Moy. $\pm s$	n.	Moy. $\pm s$	n.	Moy. $\pm s$	n.
1	846 $\pm$ 24	15	849 $\pm$ 21	14	882 $\pm$ 26	10	847 $\pm$ 26	13
2	815 $\pm$ 20	14	839 $\pm$ 28	11	853 $\pm$ 25	13	855 $\pm$ 16	14
3	848 $\pm$ 22	11	810 $\pm$ 17	14	852 $\pm$ 23	12	847 $\pm$ 30	13
4	849 $\pm$ 23	8	852 $\pm$ 19	14	832 $\pm$ 24	9	862 $\pm$ 13	9
5	844 $\pm$ 21	12	832 $\pm$ 30	7	848 $\pm$ 18	6	853 $\pm$ 20	7
6	836 $\pm$ 32	14	862 $\pm$ 16	8	872 $\pm$ 27	9	875 $\pm$ 21	7
7	837 $\pm$ 19	12	870 $\pm$ 21	12	848 $\pm$ 13	9	859 $\pm$ 21	13
8	843 $\pm$ 13	13	857 $\pm$ 31	15	858 $\pm$ 24	13	853 $\pm$ 26	11
9	827 $\pm$ 14	6	870 $\pm$ 16	13	869 $\pm$ 25	5	863 $\pm$ 31	10
10	849 $\pm$ 20	10	868 $\pm$ 10	4	867 $\pm$ 30	10	882 $\pm$ 18	9
11	883 $\pm$ 23	10	870 $\pm$ 21	10	868 $\pm$ 17	9	848 $\pm$ 20	10
12	875 $\pm$ 27	14	867 $\pm$ 20	14	879 $\pm$ 22	11	868 $\pm$ 17	12
T 1	799 $\pm$ 16	15	812 $\pm$ 30	13	824 $\pm$ 19	15	816 $\pm$ 14	15
T 2	813 $\pm$ 18	12	813 $\pm$ 17	15	831 $\pm$ 14	13	811 $\pm$ 14	13

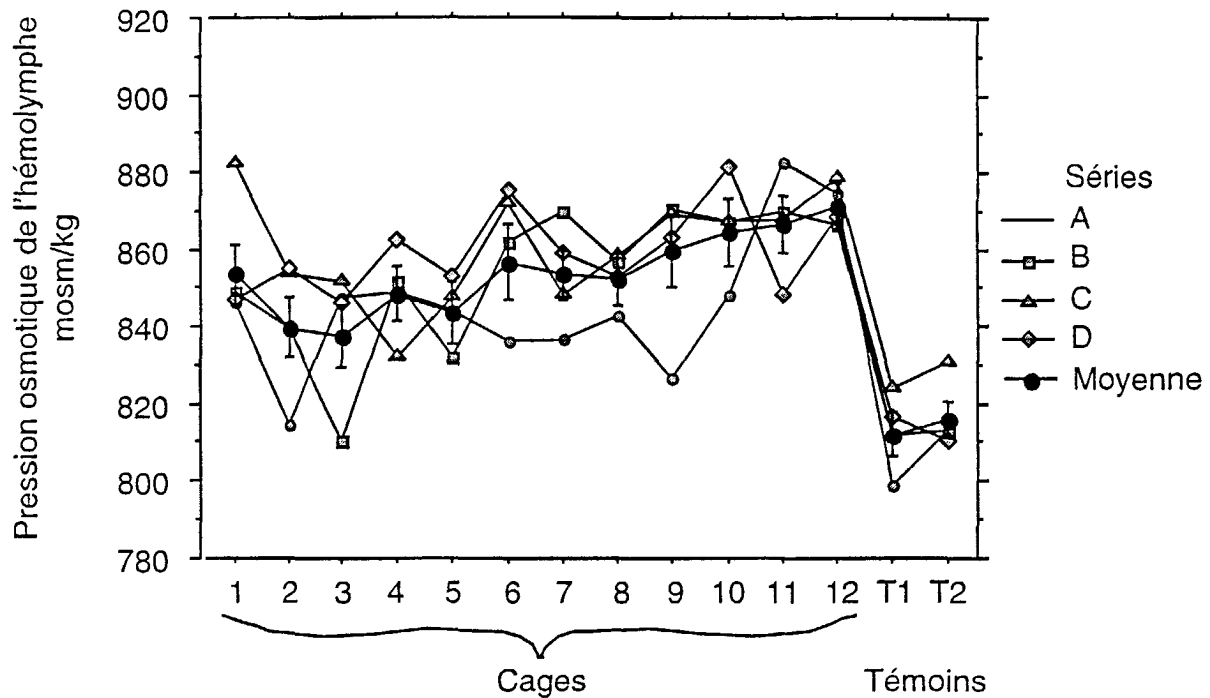


Figure 1 - Résultats pour chaque prélèvement des moyennes des mesures de pression osmotique de l'hémolymphe des crevettes confinées en cage et des témoins (grisés). Les valeurs de moyenne générale (ronds noirs) sont présentées avec leur intervalle de confiance.

Tableau 2 - Mise en évidence de l'effet du confinement ( $\pm$  effet cage) sur la pression osmotique de l'hémolymphe par analyse de variance à deux facteur.

	DDL	S. des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p
Jour	3	21059	7020	14,61	<,0001
Cage	13	198294	15253	31,75	<,0001
Interaction	39	71393	1831	3,81	<,0001
Résidus	574	275767	480		

Tableau 3 - Comparaison de la pression osmotique moyenne des crevettes témoins ou maintenues en cage par PLSD (Protected Least Significant Difference). Les données précisent le risque  $\alpha$  de rejet de l'hypothèse d'égalité des moyennes. Les probabilités en grisé sont significatives au seuil de 5%.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	T1	T2
1	-													
2	0,002	-												
3	0,000	0,567	-											
4	0,281	0,059	0,016	-										
5	0,044	0,444	0,208	0,342	-									
6	0,496	0,000	0,000	0,101	0,013	-								
7	0,998	0,002	0,000	0,293	0,050	0,509	-							
8	0,816	0,003	0,001	0,389	0,071	0,371	0,820	-						
9	0,201	0,000	0,000	0,029	0,003	0,562	0,213	0,138	-					
10	0,019	0,000	0,000	0,002	0,000	0,114	0,023	0,011	0,327	-				
11	0,005	0,000	0,000	0,000	0,000	0,047	0,006	0,002	0,176	0,741	-			
12	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,016	0,189	0,311	-		
Témoins1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-	
Témoins2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,344	-

La comparaison des témoins des quatre séries expérimentales montre que ces derniers ont varié au cours du temps, en revanche les témoins du matin ne diffèrent pas significativement de ceux de l'après-midi (Tableau 4, Figure 2)

Tableau 4 - Comparaison des différents lots témoins par analyse de variance à deux facteurs.

	DDL	S. des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p
AM / PM	1	449	449	1,336	0,2504
Jour	3	6621	22079	6,573	0,0004
Interaction	3	1419	473	1,408	0,2447
Résidus	103	34589	336		

La comparaison des moyennes par PLSD montre que les résultats observés au cours de la troisième série expérimentale C diffèrent des trois autres au seuil de 5%. En revanche les prélèvements du matin et de l'après-midi ne diffèrent pas significativement entre eux, leur moyenne a été utilisée pour calculer l'influence de la cage sur la capacité osmorégulatrice.

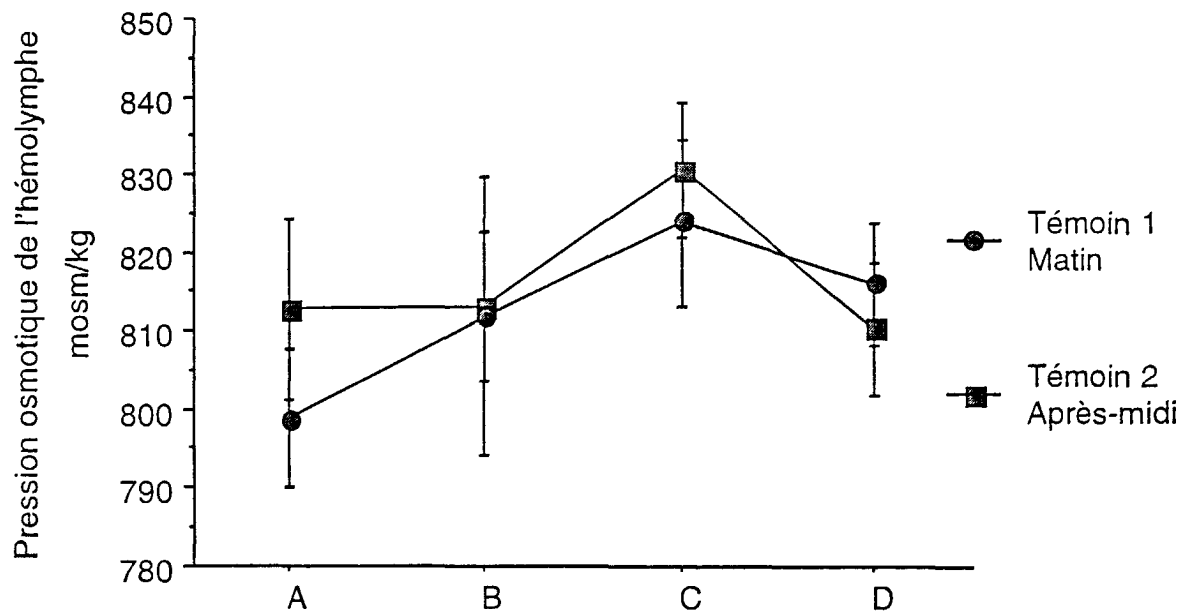


Figure 2 - Évolution de la PO des crevettes témoins capturées dans le bassin pour chacun des blocs expérimentaux.

La figure 3 présente la composante moyenne du bloc « cages » de l'augmentation de pression osmotique constatée en chaque point du bassin. Une tendance à l'augmentation de l'effet cage peut être constatée entre les points situés du côté opposé de l'arrivée d'eau (voir Figure 1)

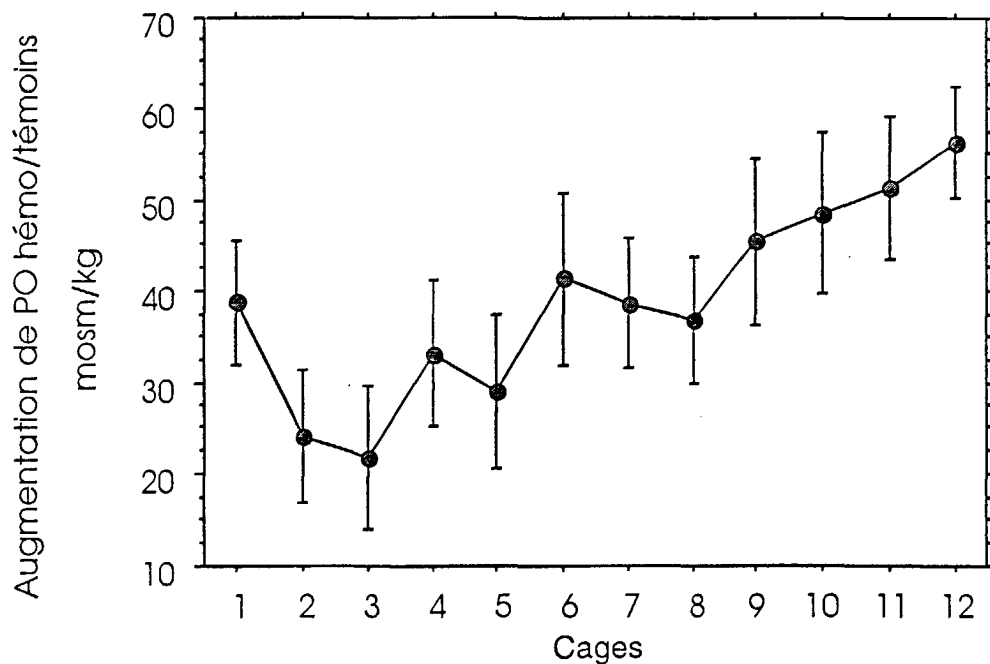


Figure 3 - Augmentation moyenne de la pression osmotique de l'hémolymphe des crevettes confinées en fonction de la position des cages. (Barres d'erreur = intervalles de confiance à 95%)

La figure 4 illustre sous forme schématique la répartition des effets de la position des cages dans le bassin. Un gradient de dépression de capacité osmorégulatrice s'organise entre les points 2 et 3 et le point 12.

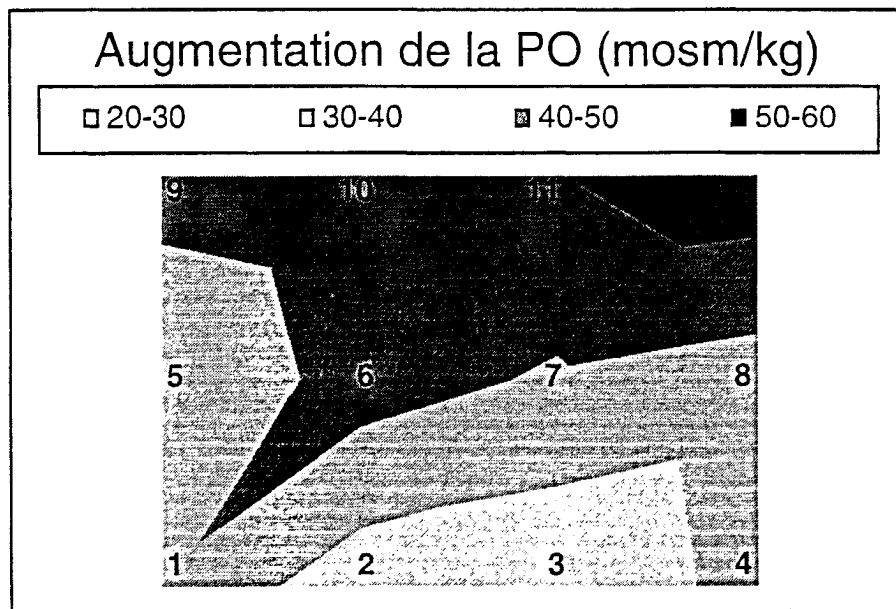


Figure 4 - Répartition schématique de l'augmentation de la pression osmotique de l'hémolymphe des crevettes dans le bassin N°8.



### 3.1.2. Caractéristiques des sédiments

Les données relatives à chacun des points de dépôt des cages de crevettes sont présentées dans le tableau 5. Une cartographie schématique de chacun de ces paramètres (à l'exception de la teneur en  $\text{NH}_3,4^+$  en  $\mu\text{g/g}$  de sédiment sec) est présentée figure 5.

Le Bassin N° 8 présente un gradient de profondeur marqué puisque celle-ci varie de 1,25 m au point 12 à 1,70 m aux points 2, 3, 4 et 8. Les autres points ont une profondeur relativement peu variable comprise entre 1,40 m et 1,55 m.

La matière organique tend à s'accumuler du côté des points 1 à 4, les points 2 et 4 étant plus particulièrement concernés et caractérisés par la fluidité du sédiment comme en témoigne leur teneur en eau.

La concentration d'ammoniaque  $\text{NH}_3,4^+$  présente un maximum au centre du bassin qui, en première analyse, ne semble pas lié au taux de matière organique ou à la fluidité du sédiment.

Le pH des sédiments et leur potentiel Redox présentent un gradient similaire à celui de la profondeur: les zones profondes apparaissent moins acides et moins oxydantes.

Tableau 5 - Caractéristiques physique et chimiques des points de dépôt des cages dans le bassin SASV N° 8.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Profondeur en cm	155	170	170	170	145	150	150	170	145	145	140	125
MO %	7	11	5	9	6	7	7	7	4	6	5	6
Teneur en eau %	34	66	33	54	28	37	35	4	26	39	34	38
pH	6,94	7,05	7,38	7,28	6,88	6,76	6,52	7,08	6,86	6,75	6,69	6,54
Potentiel redox en mv	+123	+112	-5	+44	+153	+122	+142	+48	+149	+118	+125	+122
N- $\text{NH}_3,4^+$ en mg/l	0,77	2,08	1,07	1,26	1,9	3,03	3,26	1,91	1,74	2,41	2,75	2,03
N- $\text{NH}_3,4^+$ en $\mu\text{g/g}$ s.sec	0,26	1,58	0,37	0,87	0,56	1,06	1,22	0,83	0,44	1,02	1,11	0,79

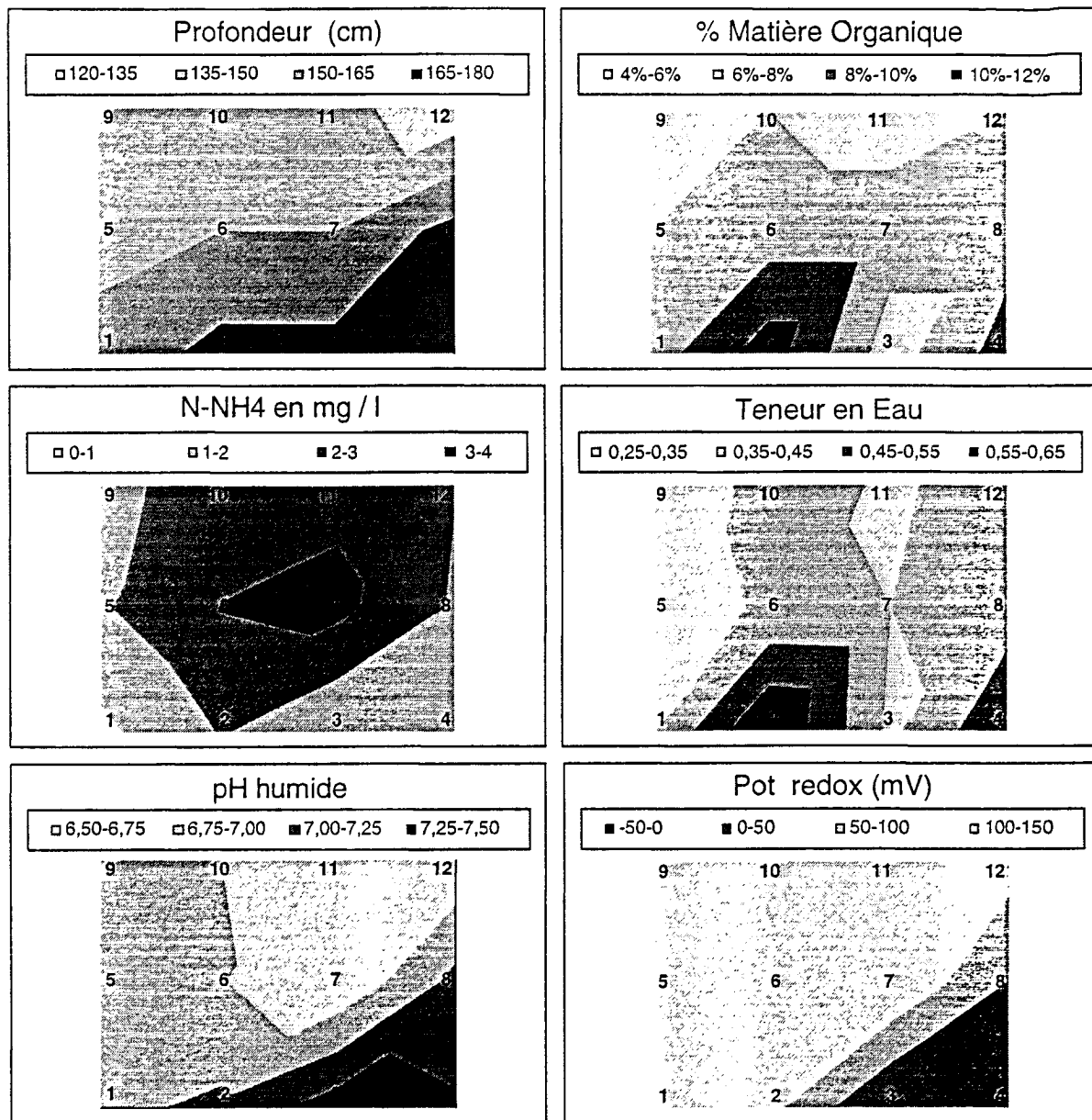


Figure 5 - Représentation graphique schématique des caractéristiques physiques et chimiques du fond du bassin N°8.

### 3.1.3. Étude des corrélations

L'analyse des corrélations entre les paramètres caractérisant les sédiments (tableau 6) montre que la profondeur joue un rôle considérable dans la répartition du sédiment.

Le pH et le potentiel redox sont fortement corrélés à la profondeur ; plus la profondeur est faible plus les sédiments sont acides et oxygénés.

Le taux d'ammoniaque-NH<sub>3,4</sub><sup>+</sup> exprimé en concentration n'est pas corrélé à la profondeur, il l'est en revanche négativement au pH lorsqu'il est exprimé en terme de concentration.

L'ammoniac-NH<sub>3</sub> calculé à partir des valeurs exprimées en concentrations est corrélé positivement à la profondeur mais probablement en raison de la variation du pH qui déplace fortement l'équilibre NH<sub>3</sub>-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> vers la forme non ionisée à pH élevé.

Le taux d'ammoniaque-NH<sub>3,4</sub><sup>+</sup> exprimé par rapport au poids sec de sédiment est corrélé positivement au taux de matière organique et à la teneur en eau, il est maximal au centre du bassin qui pourrait être la zone préférentielle de sédimentation des matières organiques.

Le taux de matière organique n'est corrélé qu'à la teneur en eau des sédiments, la plus forte accumulation des matières organiques apparaît concentrée sur les points 2 et 4 (figure 5), ancienne zone de mangrove.

La matrice de corrélation du tableau 6 met en évidence des corrélations significatives entre la pression osmotique moyenne des crevettes et la profondeur du point de dépôt des cages, le pH du sédiment et le taux d'ammoniac-NH<sub>3</sub>. Il est raisonnable de penser que cette dernière relation résulte principalement de la très grande importance du pH dans l'équilibre NH<sub>3</sub>-NH<sub>4</sub>.

L'analyse des graphes de relation entre ces paramètres du milieu et la PO (figure 6, graphes de la colonne de gauche) montre en particulier que le nuage de points du graphe pH humide/PO se compose de deux sous-ensembles de pentes très semblables. Aux points 2, 5 et 7, les crevettes semblent avoir subi un stress global plus faible qu'aux neuf autres points. Dans les deux cas une corrélation négative linéaire entre le pH et la pression osmotique peut être constatée, les points s'ordonnent suivant deux droites approximativement parallèles.

Si l'on exclut du calcul ces trois points particuliers (tableau 7, colonne de droite de la figure 6), la matrice de corrélation permet d'ajouter le potentiel redox aux paramètres significativement corrélés à la pression osmotique. Ces corrélations deviennent très fortes puisque les coefficients atteignent alors -0,970 pour le pH, -0,900 pour la profondeur, 0,810 pour le potentiel redox et 0,750 pour la corrélation avec l'ammoniac-NH<sub>3</sub>. Les graphes de la figure 6 montre un clair resserrement des nuages, en particulier pour le pH. Dans ce cas, la relation entre le pH du sédiment et la pression osmotique des crevettes est linéaire et il devient possible de dire (pour les 9 points considérés seulement) que la mesure du pH des boues suffit à évaluer le stress perçu par les crevettes confinées dans les cages.

Tableau 6 - Matrice des corrélations entre les différents paramètres mesurés au cours de l'expérience, la totalité des points sont pris en compte.

La partie supérieure droite du tableau présente les coefficients de corrélation linéaire ; les probabilités  $\alpha$  sont présentées en italique dans la partie inférieure, les valeurs significatives sont en gras et grisé.

	PO moyenne	Profondeur (cm)	pH humide	Potentiel redox	Matière organique	Teneur en eau	N-NH4 (mg/l)	N-NH3 ( $\mu$ g/l)	$\mu$ g/g sec
PO moyenne		<b>-0,780</b>	<b>-0,740</b>	0,440	-0,380	-0,290	0,420	<b>-0,660</b>	0,093
Profondeur (cm)	<i>0,002</i>		<b>0,850</b>	<b>-0,700</b>	0,540	0,520	-0,400	<b>0,830</b>	0,063
pH humide	<i>0,004</i>	<i>0,000</i>		<b>-0,810</b>	0,260	0,330	<b>-0,720</b>	<b>0,800</b>	-0,300
Potentiel redox	0,162	<i>0,009</i>	<i>0,001</i>		-0,130	-0,270	0,490	<b>-0,760</b>	0,190
Matière organique	0,224	0,070	0,422	0,697		<b>0,920</b>	-0,018	0,400	<b>0,600</b>
Teneur en eau	0,377	0,084	0,305	0,398	<i>&lt;0,001</i>		-0,039	0,520	<b>0,660</b>
N-NH4 (mg/l)	0,182	0,203	<i>0,007</i>	0,108	0,956	0,907		-0,190	<b>0,710</b>
N-NH3 ( $\mu$ g/l)	<i>0,017</i>	<i>0,000</i>	<i>0,001</i>	<i>0,003</i>	0,205	0,086	0,563		0,210
N-NH4 $\mu$ g/g sec	0,779	0,851	0,346	0,573	<b>0,038</b>	<b>0,017</b>	<b>0,008</b>	0,515	

Tableau 7 - Matrice des corrélations entre les différents paramètres mesurés au cours de l'expérience ; les données relatives aux points 2,5 et 7 ont été exclues.

La partie supérieure droite du tableau présente les coefficients de corrélation linéaire, les probabilités  $\alpha$  sont présentées en italique dans la partie inférieure, les valeurs significatives sont en gras et grisé.

	PO moyenne	Profondeur (cm)	pH humide	Potentiel redox	Matière organique	Teneur en eau	N-NH4 (mg/l)	N-NH3 ( $\mu$ g/l)	N-NH4 $\mu$ g/g sec
PO moyenne		<b>-0,900</b>	<b>-0,970</b>	<b>0,810</b>	-0,150	-0,110	0,660	<b>-0,750</b>	0,550
Profondeur (cm)	<i>0,000</i>		<b>0,940</b>	<b>-0,800</b>	0,430	0,370	-0,500	<b>0,820</b>	-0,260
pH humide	<i>&lt;0,001</i>	<i>&lt;0,001</i>		<b>-0,870</b>	0,300	0,320	<b>-0,670</b>	<b>0,800</b>	-0,430
Potentiel redox	<i>0,006</i>	<i>0,007</i>	<i>0,001</i>		-0,300	-0,420	0,460	<b>-0,840</b>	0,180
Matière organique	0,702	0,254	0,449	0,451		<b>0,890</b>	-0,170	0,280	0,240
Teneur en eau	0,782	0,341	0,423	0,276	<i>0,001</i>		-0,081	0,420	0,430
N-NH4 (mg/l)	0,052	0,176	<i>0,049</i>	0,220	0,666	0,842		-0,110	<b>0,850</b>
N-NH3 ( $\mu$ g/l)	<i>0,018</i>	<i>0,004</i>	<i>0,007</i>	<i>0,003</i>	0,485	0,274	0,785		0,120
N-NH4 $\mu$ g/g sec	0,132	0,508	0,260	0,647	0,549	0,264	<b>0,002</b>	0,775	

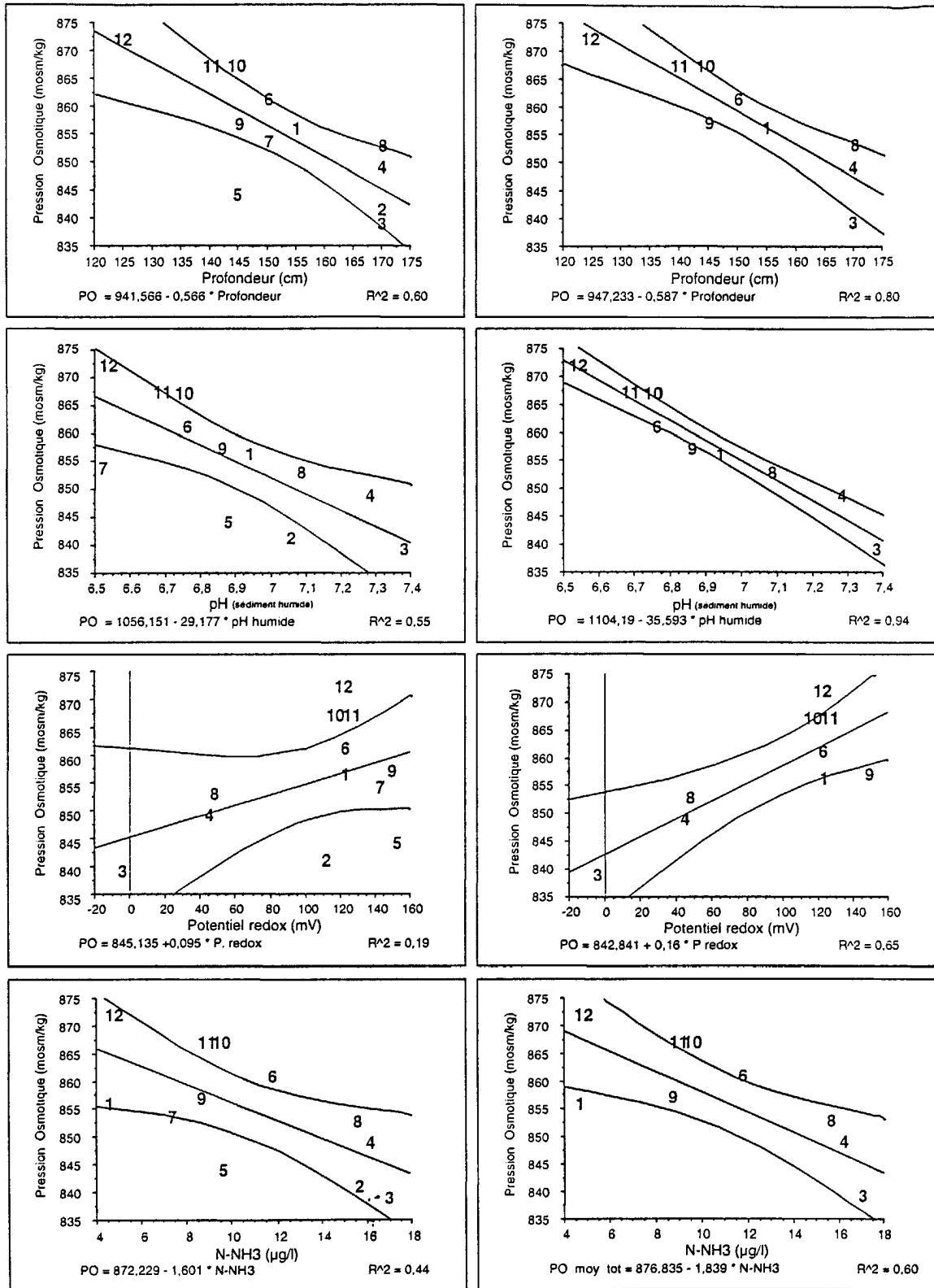


Figure 6 - Graphes des corrélations significatives entre la pression osmotique des crevettes et certains paramètres physiques et chimiques. Dans les graphes de droite, les points 2, 5 et 7 ont été exclus.

### 3.2. Étude *in vitro* de l'effet du pH sur la pression osmotique

Les résultats du test d'évaluation de l'effet du pH sur la capacité osmorégulatrice des crevettes sont présentés dans la figure 7. L'analyse de variance à deux facteurs montre un effet significatif du pH sur la pression osmotique de l'hémolymphe des crevettes (tableau 8). Le premier bloc expérimental a donné lieu à des mortalités (6/8 à pH 6 et 2/8 à pH 6,5) qui n'ont pas été observées lors de la deuxième série, celles-ci étaient associées à une plus forte augmentation de la pression osmotique des crevettes. Cette dernière est à l'origine de l'interaction significative entre le pH et les blocs constatée dans l'ANOVA.

Les concentrations d'ammoniaque-NH<sub>3,4</sub><sup>+</sup> observées variaient de 0,35 à 0,75 mg/l, ces concentrations n'étaient pas significativement corrélées au pH mais le maximum étant observé dans les témoins à pH non régulé.

Tableau 8 - Analyse de l'influence du pH sur la pression osmotique de l'hémolymphe des crevettes en bacs expérimentaux par ANOVA à deux facteurs.

	DDL	S. des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p
pH	5	60299	12060	22,70	<,0001
Bloc	1	836	836	1,57	0,2137
pH * bloc	5	23872	4774	8,99	<,0001
Résidus	73	38782	531		

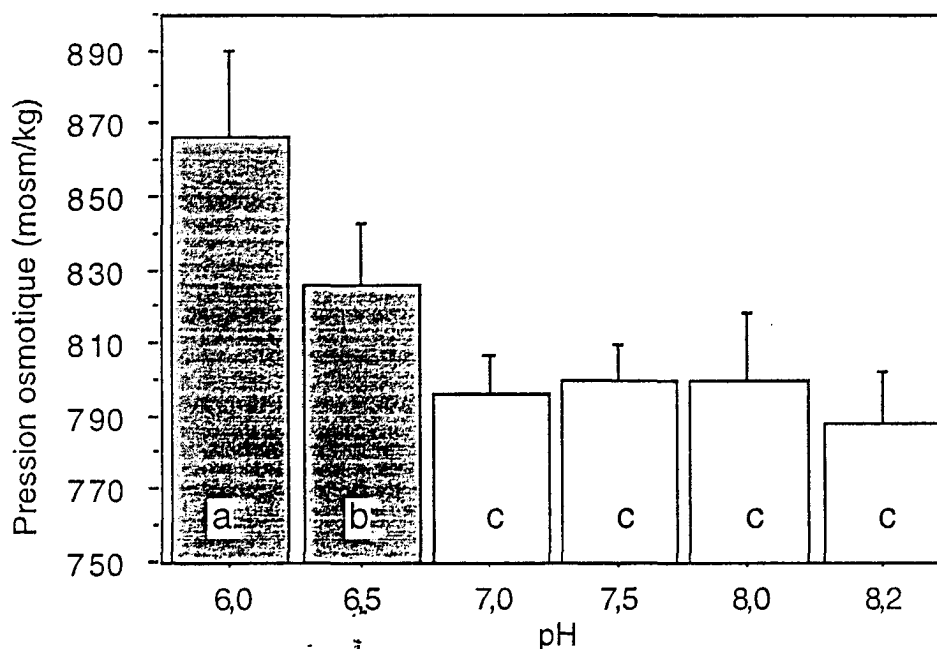


Figure 7 - Influence du pH sur la pression osmotique de l'hémolymphe des crevettes. Les animaux des groupes a et b placés dans une eau de pH 6,0 ou pH 6,5 ont une pression osmotique hémolympatique significativement plus élevée que ceux du groupe c

#### 4. Discussion

Les résultats qui ont été obtenus au cours de cette expérience démontrent clairement l'influence de la position de la cage au fond du bassin sur le stress ressenti par les crevettes captives. Malgré une variation significative de la pression osmotique moyenne des crevettes témoins, il a été possible de déterminer les zones les plus stressantes. La puissance expérimentale était suffisante pour mettre en évidence l'effet de la captivité sur l'osmorégulation des crevettes mais le protocole mis en oeuvre ne permet pas de distinguer ce stress de celui dû au sédiment.

La comparaison avec les résultats obtenus dans le même bassin en 1995 montre de fortes différences de localisation des zones stressantes. Cette expérience avait été réalisée au tout début de la saison chaude en fin de période de fortes amplitudes de variation de température. En 1997, les travaux ont été menés en fin de saison chaude, la taille des crevettes était identique au gramme près mais leur âge différait sensiblement au début des expériences (110 jours d'élevage en 1995 contre 86 jours en 1997) malgré une gestion d'élevage très semblable. Il est probable que les conditions climatiques et les performances de croissance des crevettes ont eu des conséquences sur la dynamique physicochimique des sédiments et donc leur composition chimique.

Tableau 9 - Comparaison de pressions osmotiques moyennes observées dans le bassin 8 de la SASV en 1995 et en 1997. Moyenne  $\pm$  écart-type

Lot	1995	1997
Témoin	868 $\pm$ 38	815 $\pm$ 24
1	899 $\pm$ 38	856 $\pm$ 24
4	915 $\pm$ 57	849 $\pm$ 33
9	880 $\pm$ 26	857 $\pm$ 46
12	890 $\pm$ 39	872 $\pm$ 56

Le tableau 9 présente les résultats moyens obtenus au cours de ces deux expériences, les points de dépôt des cages en 1995 correspondaient approximativement aux points 1, 4, 9 et 12 du présent travail.

Une première différence importante se situe au niveau des témoins : la pression osmotique des témoins de 1995 est supérieure de 53 mosm/kg à celle observée ici. Les quatre séries expérimentales observées en 97 ont permis de constater que des variations significatives de la PO des crevettes témoins s'étaient produites pendant l'expérience. Les suivis réalisés au COP (Cochard et al, 1996) sur des périodes plus courtes (72 heures à raison d'un prélèvement toutes les deux heures) avaient permis de conclure à une grande stabilité de la pression osmotique des crevettes à jeûn. En l'état, il n'est pas possible de déterminer si ces différences et variations résultent d'un état de stress ou de variations normales (à caractère cyclique, par exemple). Il faut cependant noter que des écarts de cette importance n'ont jamais été observés entre témoins lors des expériences similaires réalisées au COP par Heyvang (1995) et Magliozzi (1996). Les différences de PO entre les témoins et les animaux captifs étaient sensiblement identiques d'une année à l'autre. Si l'on admet que l'effet du stress sur la PO est additif en raison de son caractère non spécifique dans ce cas le niveau de stress était beaucoup moins important en 1997.

Le protocole mis en oeuvre en 1995 ne permettait pas d'établir des corrélations significatives entre les paramètres physiques et chimiques des sédiments et la pression osmotique des crevettes. Néanmoins les 10 prélèvements réalisés se situaient approximativement aux mêmes points qu'en 1997 (sauf pour les points 6 et 7), ils permettent

d'établir certaines comparaisons entre les expériences. Celles-ci concernent la profondeur, le taux d'ammoniac, la teneur en matière organique et le potentiel rédox (Tableau 10).

Le stress était maximal en zone profonde (points 1 et 4) en 1995 alors qu'il est ici fortement corrélé négativement à la profondeur.

Les taux de matière organique des sédiments apparaissent peu différents d'une année à l'autre : ils variaient de 4 à 11% en 1997 et, comme en 1995, étaient sensiblement plus importants en zone profonde (points 1 à 4).

Les différences les plus significatives concernent les taux d'ammoniac et le potentiel rédox. Les taux d'ammoniac-NH<sub>4</sub> exprimés en µg/g de sédiment sec dans le tableau 10 apparaissent en 1997 très inférieurs à ceux de 1995 : ils variaient de 2 à 12,6 avec de très fortes concentrations en particulier aux points d'accumulation des sédiments organiques 1, 3 et 4 où ils dépassent 10µg/g. En 1997, la concentration est en moyenne 15 % de celle de 95 mais représente moins de 5% en zone profonde ; le rapport n'est que de 40 % des valeurs de 95 aux points 10 et 11. En aucun cas, les valeurs observées n'atteignent des niveaux susceptibles de modifier la pression osmotique de *P. stylirostris*. Il n'est donc pas surprenant que la corrélation entre l'ammoniac NH<sub>4</sub> et la pression osmotique ne soit pas significative.

En revanche les valeurs d'ammoniac-NH<sub>3</sub> calculées sur la base du déplacement de l'équilibre NH<sub>3</sub>-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> sont inversement corrélées à la PO, en apparence tout se passe comme si les fortes concentrations d'ammoniac-NH<sub>3</sub> avaient un effet positif sur la capacité osmorégulatrice des crevettes. Il est raisonnable de penser que cet effet paradoxal est la conséquence mathématique du pH qui déplace l'équilibre NH<sub>3</sub>-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> d'un facteur 10 entre le pH 6,5 le pH 7,5. Il reste que les concentrations de NH<sub>3</sub> mesurées sont environ 1000 fois inférieures à celles qui ont provoqué des baisses de la capacité osmorégulatrice chez cette espèce (Llorca, 1996).

Tableau 10 - Comparaison des taux de matière organique, d'azote ammoniacal et du Potentiel rédox en 1995 et 1997.

Points	Matière organique (%)		N-NH <sub>3,4</sub> <sup>+</sup> (µg/g s.sec)		Potentiel rédox (mV)	
	95	97	95	97	95	97
1	10	7	12,1	0,26	-100	+123
2	8	11	4,5	1,58	-15	+112
3	10	5	12,3	0,37	-50	-5
4	11	9	12,6	0,87	-20	+44
5	-	6	-	0,56	-	+153
6	-	7	-	1,06	-	+122
7	7	7	4,3	1,22	+53	+142
8	7	7	3,9	0,83	+40	+48
9	6	4	1,9	0,44	+47	+149
10	7	6	2,4	1,02	+32	+118
11	6	5	2,7	1,11	+65	+125
12	5	6	3,1	0,79	+20	+122

Le potentiel rédox de surface indique un bien meilleur état des sédiments du bassin 8 en 97. La première année 4 points sur 10 avaient un potentiel négatif (moyenne -7 mV) les valeurs variaient de -100 à +65 alors qu'en 1997 la moyenne était supérieure à 100 mV avec un seul point légèrement négatif et des valeurs maximales de l'ordre de +150 mV.



Ces valeurs indiquent que le même bassin avait une capacité d'oxydation de la matière organique beaucoup plus importante au cours de cette deuxième série expérimentale.

Le potentiel rédox est fortement corrélé à la pression osmotique de crevettes mais une nouvelle fois cette corrélation est inverse de ce qui paraissait le plus probable. Les trois points 3, 4 et 8, les moins oxydés sont aussi ceux où la pression osmotique est la plus faible. Il semble donc que dans ce cas les zones habituellement considérées comme dégradées étaient moins stressantes que les fonds généralement dits « propres »

Le phénomène le plus significatif observé en 1997 est la corrélation entre le pH des sédiments et la pression osmotique de l'hémolymphe des crevettes. Aucune mesure du pH des sédiments n'avait été réalisée en 1995 faute de sonde adaptée mais les vérifications in vitro réalisées au COP après cette expérience démontrent que les pH faibles provoquent une augmentation de la PO. Cette augmentation semble corrélée au pH entre 6,0 et 7,0 ce qui correspond précisément aux observations de terrain. La pression osmotique des crevettes confinées en cages apparaît directement perturbée par l'acidité des sédiments sur lesquels les cages reposent.

Cette corrélation linéaire suggère, en outre, l'existence de deux facteurs différents agissant sur les PO : les points 2, 5 et 7 sont situés sur une droite parallèle à celle que décrivent les neuf autres. Ces derniers pourraient être soumis à un autre facteur de stress dont l'effet s'ajouterait au précédent.

## 5. Perspectives

L'étude réalisée sur le terrain a permis de détecter un effet très significatif du pH de surface des sédiments sur la capacité osmorégulatrice des crevettes confinées dans des cages. Elle a en outre permis de constater que le même bassin géré de façon identique, au même stade de l'élevage mais à deux saisons différentes (fin de saison froide et pleine saison chaude) présentait des qualités de sédiment très différentes. Ceux de la deuxième période présentaient des caractéristiques physiques et chimiques que l'on considère généralement comme globalement meilleures. Il est permis de penser que la dynamique de sédimentation et de recyclage de la matière organique déposée dans le bassin a varié de façon considérable d'une saison à l'autre. La plupart des travaux de caractérisation des sédiments des bassins d'élevage étant réalisés à la vidange et à la fin de l'assec, il serait peut être intéressant d'étudier l'évolution de ces dépôts avec une maille de temps plus serrée.

Les effets délétères des sédiments acides sont connus de longue date en pénéculture, notamment dans les bassins creusés trop bas sur d'anciennes mangroves qui voient le pH de leurs eaux affecté de façon considérable par la percolation de l'eau au travers des sédiments très acides. Les crevettes *P. monodon* élevées dans ces bassins ont une croissance diminuée de 40% à pH 6,45. Des mortalités très importantes ont été observées à des pH inférieurs à 6,0. La très forte corrélation observée entre le PH des sédiments et le stress constaté chez les crevettes ne paraît pas liée à l'acidité des sols de mangrove, la partie concernée a été creusée sur l'arène de la roche mère. Ces observations demanderaient donc à être confirmées sur d'autres bassins et à d'autres moments, notamment à basse température (20°C) et en période de Syndrome 93.

L'influence du pH environnemental sur la physiologie des crustacés a été relativement peu étudiée et essentiellement chez les animaux vivant en eau douce, plus particulièrement ses effets sur la pression partielle de CO<sub>2</sub> sanguin. Il joue un rôle considérable dans la capacité respiratoire des crevettes : l'alcalose sanguine augmente significativement l'affinité de l'hémocyanine pour l'oxygène. Il n'est pas déraisonnable de penser que des pH faibles dans l'environnement puissent se traduire chez la crevette par une chute du pH hémolympatique qui deviendrait létale chez les animaux en situation d'hypoxie

temporaire. Il serait à cet égard utile d'envisager, outre la mesure du pH hémolympatique des crevettes en eau de mer acidifiée, l'étude des interactions entre l'hypoxie et le pH.