

Projet DÉDUCTION 2007-2010

Bilan par action et annexes



Table des matières

Communication	5
Environnement « bassin »	7
1. Indicateurs physico-chimiques, biogéochimiques et de la méiofaune des fonds de bassin	7
1.1. Contexte et enjeux	7
1.2. Principaux constats	7
1.3. Résultat majeur : sélection d'indices de qualité des fonds de bassins	8
2. Colonne d'eau	10
2.1. Introduction	10
2.2. Les populations de phytoplancton dans les bassins	10
2.3. Evolution des populations dominantes	11
2.4. Etudes en mésocosmes	13
2.5. Expérimentations en bassins de terre	15
2.6. Conclusion générale	17
3. Références bibliographiques	18
Pathologie, Infection et Épidémiologie	21
1. Introduction	21
1.1. Contexte économique et scientifique	21
1.2. Bref état des connaissances des vibrioses en Nouvelle-Calédonie	21
1.3. Objectifs de l'action 2 dans le cadre du programme DEDUCTION	22
2. Caractérisation des facteurs de pathogénie de <i>V. nigripulchritudo</i> et <i>V. penaeicida</i>	23
2.1. Implication des éléments génétiques mobiles dans la virulence de <i>V. nigripulchritudo</i>	23
2.2. Caractérisation des exotoxines de <i>Vibrio penaeicida</i>	25
2.3. Conclusion et perspectives	25
3. Développement d'outils de diagnostic et application à des études de bassins de crevettes	26
3.1. Mise au point de techniques	26
3.2. Application pratique de ces outils : détection de <i>V. nigripulchritudo</i> dans les sédiments de bassins de crevettes	27
3.3. Conclusion / Perspectives	28
4. Recherche de souches à caractère probiotique pour les élevages larvaires de crevettes	28
5. Références bibliographiques	30
Écophysiologie	31
1. Physiologie larvaire et post-larvaire	31
1.1. Contexte	31
1.2. Besoins énergétiques des larves	31

1.3.	Mise en place des défenses antioxydantes et du stress oxydatif chez les larves et PL	32
1.4.	Mise en place des structures de l'osmorégulation et de la respiration au cours de l'ontogenèse	33
1.5.	Perspectives	35
2.	Métabolisme oxydatif et allocation énergétique de deux types génétiques de la crevette <i>Litopenaeus stylirostris</i>	36
3.	Ecophysiologie et nutrition	37
3.1.	Développement des outils	37
3.2.	Les recherches sur les probiotiques et l'élevage intensif des géniteurs	39
4.	Références bibliographiques	43
Génétique		45
1.	Historique et rappel des enjeux	45
2.	Démarche	46
3.	Résultats et problèmes rencontrés	46
3.1.	Évaluation de l'intérêt de la souche Hawaii	46
3.2.	Conservation et exploitation de la diversité génétique disponible	48
3.3.	Amélioration génétique par sélection	49
4.	Transfert et perspectives	50
4.1.	Évaluation de l'intérêt de la souche Hawaii	50
4.2.	Conservation et exploitation de la diversité génétique disponible	50
4.3.	Amélioration génétique par sélection	51
5.	Références bibliographiques	52
Suivi des élevages et observation de la filière		55
1.	Veille clinique	55
1.1.	Rappel du fonctionnement de la veille clinique (2007-2010)	55
1.2.	Résultats	56
1.3.	Retombées éventuelles pour la filière et perspectives	57
2.	Base de données : administration, évolution et maintenance de la base STYLOG	57
2.1.	Historique et rappel des enjeux	57
2.2.	Démarche	58
2.3.	Résultats	59
3.	Exploitation des données de STYLOG	59
3.1.	Historique et rappel des enjeux	59
3.2.	Démarche	60
3.3.	Résultats	60
4.	Biosécurité	62
4.1.	Mise en place de la biosécurité à St-Vincent	62
4.2.	Résultats et conclusions	65

5.	Références bibliographiques	65
----	-----------------------------	----

Annexes

1.	Publications et communication	67
1.1.	Articles dans revues à comité de lecture	67
1.2.	Articles dans revues sans comité de lecture	68
1.3.	Ouvrages et articles dans ouvrages	68
1.4.	Posters et communications orales dans des colloques ou groupes de travail	68
1.5.	Thèses et HDR	70
1.6.	Rapports de contrats (CEE, FAO, Convention...) et comptes-rendus (expérience, essai, campagne de mesures...)	70
1.7.	Notes aux professionnels et aux partenaires institutionnels	71
1.8.	Rapports scientifiques et techniques	71
1.9.	Rapports d'activités	71
1.10.	Mémoires d'étudiants	72
1.11.	Autres types de rapports	73
1.12.	Activités de diffusion des connaissances	74
2.	Structure et programmation à 4 ans du projet DÉDUCTION	75
3.	Fiches actions 2009 du projet DÉDUCTION	81

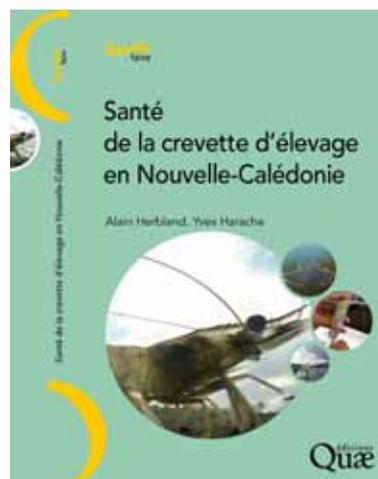
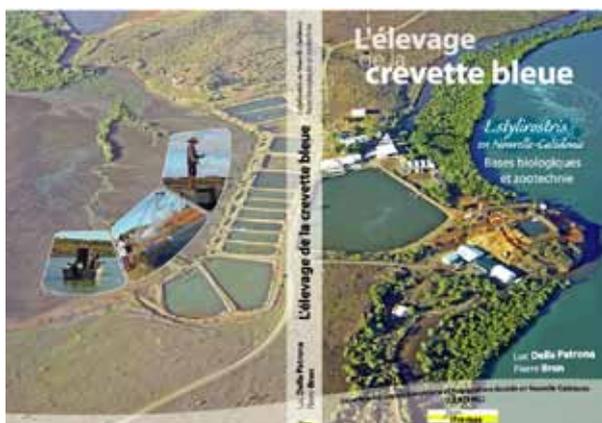


Communication

L'annexe compile les références aux documents de programmation et bilan de DEDUCTION, la production scientifique du projet, les actions de communication à destination de la filière, ainsi que les participations diverses aux réunions de travail avec la filière.

Au cours de ces 4 ans, les points majeurs sur ce volet communication ont été :

- la publication des ouvrages de synthèse « Santé de la Crevette d'Élevage en Nouvelle-Calédonie » et « Élevage de la Crevette Bleue en Nouvelle-Calédonie *Litopenaeus stylirostris* : Bases biologiques et zootechnie ».



- la publication d'une trentaine d'articles scientifiques dans des revues à comité de lecture
- la finalisation de trois mémoires de thèse de doctorat
- la rédaction et la mise à disposition vers la filière de fiches biotechniques et de rapports scientifiques et techniques.

Par ailleurs, Ifremer a organisé et participé à de nombreuses réunions techniques, participant largement à la « vie » de la filière.



Environnement « bassin »

1. Indicateurs physico-chimiques, biogéochimiques et de la méiofaune des fonds de bassin

1.1. Contexte et enjeux

La ferme Seafarm (SF) est depuis fin 1997 affectée par des mortalités épizootiques, provoquées par une bactérie pathogène, *Vibrio nigripulchritudo* sur tous les élevages de saison chaude (survies 25-30%). En 2003, une seconde ferme Aigue Marine (AgM), située dans la même baie, non loin de SF a connu dès sa première année d'exploitation des mortalités de type syndrome d'été. Avec des survies inférieures à 35%, la ferme a cessé son activité en 2005. En 2006, les deux bassins d'une troisième ferme « ancienne », FAO, localisée en baie de Saint Vincent ont connu des épisodes de mortalités impliquant le même *Vibrio* (survies 31 et 35%). L'enchaînement de ces phénomènes a fait craindre une extension de la maladie à l'ensemble de la filière qui a demandé une intervention de l'Ifremer.

La comparaison de deux élevages - l'un présentant le syndrome d'été et l'autre non - s'étant révélée fructueuse dans l'étude des processus susceptibles de favoriser l'apparition du syndrome d'hiver (Herbland et Harache, 2008). L'approche comparative a donc été de nouveau retenue pour étudier les deux fermes où le syndrome d'été est

apparu dans des environnements différents. Pour des raisons logistique et de personnel, les deux suivis ont dû être découplés en deux expérimentations démarrées au cours de deux saisons chaudes consécutives en 2006 et 2007.

A partir des résultats du suivi comparatif sur SF et SV (février – juillet 2006) et de l'expérimentation réalisée sur AgM (décembre 2006 - avril 2007), les objectifs de l'étude (Della Patrona et al., 2011c) ont principalement été de :

- mettre en évidence des variables biologiques et biogéochimiques discriminantes de l'état de fonctionnement des bassins d'élevage, en cohérence avec les conclusions du rapport d'experts du programme DESANS (Chevassus et al., 2006)
- approcher l'importance relative de la colonne d'eau et du fond de bassins sur le « confort écologique » des crevettes.
- évaluer l'importance d'un apport de terre végétale sur la productivité globale pour AgM.

1.2. Principaux constats

Les valeurs des paramètres mesurés dans la colonne d'eau sont demeurées dans des limites infra critiques pour *L. stylirostris* ce qui exclut sans doute une influence directe de ceux-ci sur les mortalités.

Les fortes prévalences de *V. nigripulchritudo* dans le sédiment à SV n'ont pas entraîné de mortalités significatives (taux de survie final 80%). La persistance des survies médiocres à SF, les excellents résultats de la ferme FAO en 2007 de l'ordre de 65 et 75% contre 31 et 35% en 2006, l'excellente survie de 80% du bassin à SV malgré la présence confirmée de la souche virulente pathogène attesteraient du pouvoir « régulateur » de l'« environnement bassin » et notamment de l'interaction des paramètres physico-chimiques qui le composent sur le « confort » physiologique des crevettes. Les différentes modalités de la pathogénicité des vibrios affectant la production calédonienne étant à l'étude, on ne peut préjuger toutefois

de l'absence de mortalités massives même en cas d'environnement favorable.

Les paramètres physico-chimiques mesurés dans le sédiment se sont révélés des indicateurs potentiels de la qualité de l'environnement, plus intégrateurs que les paramètres mesurés dans la colonne d'eau. Ainsi le redox, les sulfures, les valeurs des concentrations en Matières Aisément Oxydables (un proxy de demande chimique en oxygène) et de la demande biologique en oxygène (DOS) peuvent donner une indication de la qualité des sédiments sur le plan de l'enrichissement organique. Plus le degré d'eutrophisation des sédiments est important, plus conjointement les valeurs de redox sont faibles ou négatives, plus les productions de MAO et de DOS sont élevées. Il est confirmé que la connaissance de la quantité et de la qualité (glucides, protéines, lipides) de la matière organique sédimentaire est importante à la fois d'un point de vue biogé-

ochimique (notamment les lipides), où son taux de dégradation conditionnerait son enfouissement dans le sol (Manini et al., 2003) et d'un point de vue trophique (rapport PRT:CHO) où

la qualité de celle-ci influencerait sur le métabolisme et la distribution de la faune benthique (Dell' Anno et al., 2002).

1.3. Résultat majeur : sélection d'indices de qualité des fonds de bassins

Au cours de ce travail, 39 paramètres ont été suivis dans le temps et dans l'espace dans la colonne d'eau (12) et dans le sédiment (27). Près de la moitié n'avait jamais été étudiée dans le domaine de la crevetteculture. Pour le sédiment, comme indicateurs potentiels d'eutrophisation, on peut retenir le groupe (redox, MAO, DOS, lipides sédimentaires (LIP)) pour la biogéochimie et le groupe (bactéries, phytopygmes sédimentaires, méiofaune, protistes) pour la richesse trophique. La Figure 1 illustre la capacité de discrimination des lipides sédimentaires :

Les descripteurs géochimiques sélectionnés (MAO, DOS, redox et LIP) permettent de positionner les fermes étudiées (stations et/ou bassins) en fonction d'un enrichissement organique croissant, résultat pour part de l'accumulation des cycles successifs conduisant à des conditions environnementales de plus en plus délétères (Figure 1).

On peut ainsi regrouper les bassins AgM et la station « saine » sva de Saint-Vincent en les considérant comme les environnements subissant la plus faible pression organique. La station « impropre » sf1 de Seafarm abrite les conditions les plus défavorables en terme de pool actif de la demande en oxygène. Les stations « saine » sf2 (Seafarm) et « impropre » svb sont au même niveau et témoignent d'une pression identique modérée. A ces indices chimiques de perturbation organique, vient s'ajouter l'indice biologique FAI % (Foraminiferal Abnormality Index = taux de déformation des tests de Foraminifères) développé par (Debenay et al., 2009a et b) sur nos échantillons qui est fortement corrélé négativement avec le redox, et positivement avec les MAO et la DOS.

Parallèlement, les indices biotiques retenus nous renseignent sur les ressources trophiques disponibles dans les différents milieux échantillonnés. Ce sont également, comme le FAI, des indicateurs biochimiques, physiologiques (taux de croissance, taux de fécondité, maladies), et de comportement qui répondent aux perturbations.

Les bassins d'AgM se distinguent nettement des autres par leur pauvreté trophique. Les stations « saine » sf2 (Seafarm) et « impropre » svb offrent les meilleures conditions. Les stations « saine » sva (Saint-Vincent) et « impropre » sf1 (Seafarm) témoignent d'un statut trophique intermédiaire. Si on met en relation les deux jeux d'indicateurs avec la capacité de production des fermes, on constate que :

- le bassin de la ferme Seafarm qui présente la plus faible capacité de production possède un statut trophique intermédiaire à fort mais offre des niveaux d'eutrophisation de fort à très élevé. Ce résultat est à relativiser en considérant que la station « impropre » sf1 est représentative d'environ 75% du bassin. Le niveau d'eutrophisation atteint (seuil) à sf1 est tel qu'il ne permet plus à la vie benthique de se développer y compris *L. stylirostris* ;

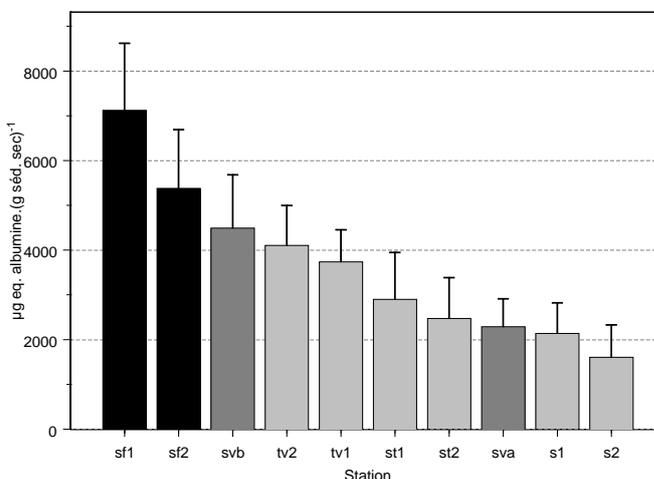


Figure 1 : Classement des stations/bassins à partir des teneurs moyennes en protéines labiles mesurées dans les sédiments (SF : sf1 = station « défavorable » et sf2 = station « propre » ; SV : svb = station « défavorable » et sva = station « propre » ; AgM : tv1 et tv2 = « terre végétale », s1, s2, tv1, tv2 sans ajout de terre végétale.

- le bassin de Saint-Vincent procure les meilleurs rendements zootechniques. La station « saine » sva est représentative de 90% de la surface. Le milieu exerce une pression d'eutrophisation modérée et possède une capacité trophique moyenne à forte ;
- les bassins d'Aigue Marine témoignent d'une biocapacité intermédiaire. Les effets des perturbations relatives à la charge organique sont faibles. Toutefois, les ressources trophiques autochtones sont insuffisantes (seuil) pour conduire à des rendements satisfaisants.

Il est confirmé que les indices biologiques sont complémentaires des indicateurs chimiques. Mis en relation, ils permettent de mieux appréhender la qualité des fonds de bassins (Figure 2). En effet, en ne prenant en compte que les indices biogéochimiques précités, on pourrait s'attendre à ce que les bassins d'AgM qui ne subissent qu'une très faible pression

« organique » produisent de bons résultats zootechniques. Inversement, en ne se basant que sur les indices biologiques abordés, on pourrait escompter que le bassin de Seafarm qui dispose de ressources trophiques importantes conduisent à

des rendements zootechniques satisfaisants. A ces indicateurs se surajoutent naturellement le caractère plus ou moins virulent des pathogènes présents dont l'impact est plus ou moins modulé par les qualités de l'environnement « bassin ».

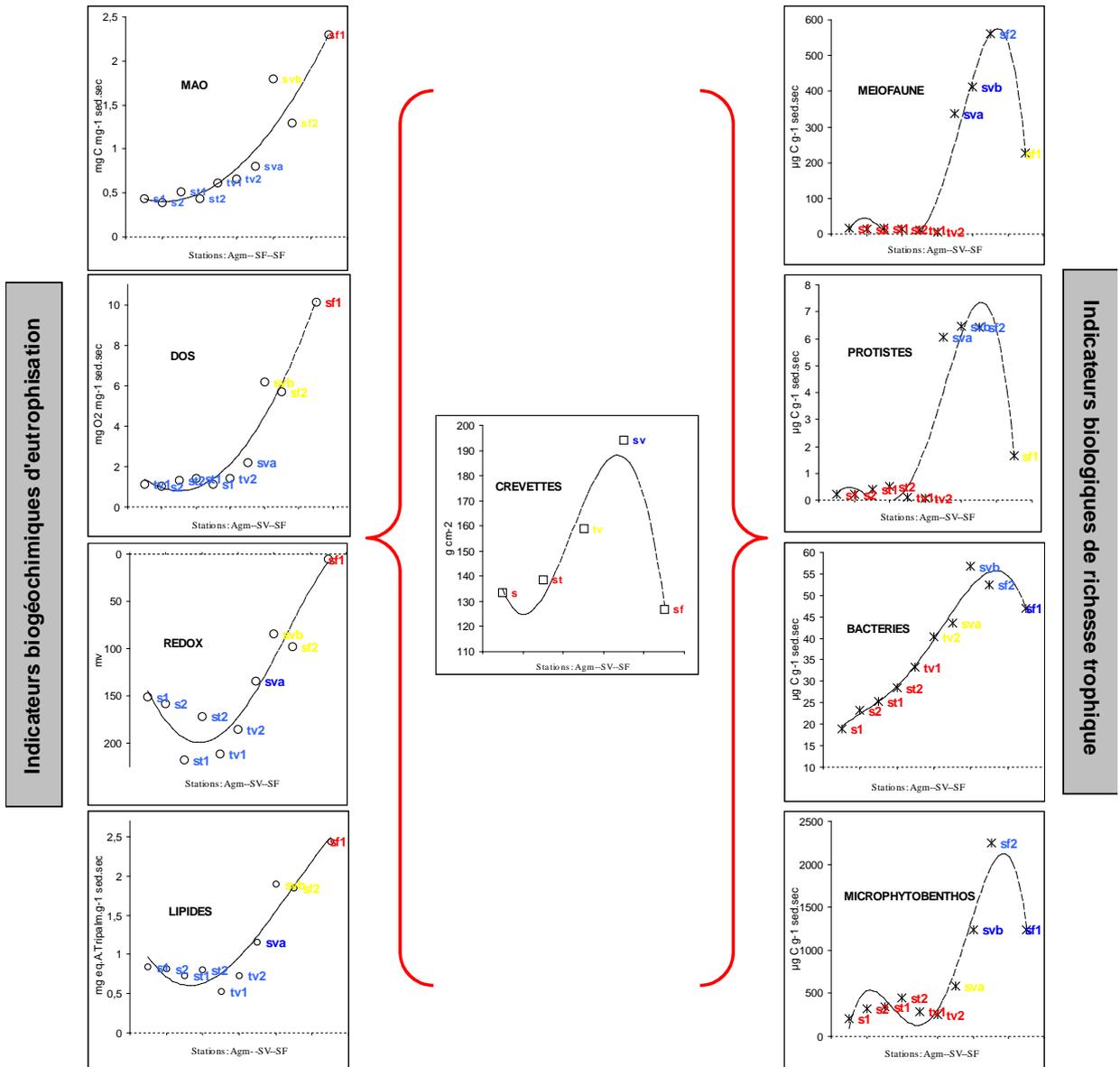


Figure 2 : Niveau d'eutrophisation et statut trophique des différents bassins basés sur les paramètres sélectionnés mis en relation avec leur capacité de production. Grille de lecture à dire d'expert : Bleu : bon ; Jaune : moyen ; Rouge : mauvais.

2. Colonne d'eau

2.1. Introduction

Les études réalisées en Nouvelle-Calédonie sur l'écosystème « bassin aquacole crevette » montrent que les biomasses phytoplanctoniques des bassins semi-intensifs sont très largement dominées par du phytoplancton de très petite taille (Lemonnier et al., 2010 ; Thomas et al., 2010) dont la production photosynthétique relative peut être supérieure à celle des eaux du lagon oligotrophe (Herbland, données non publiées). Dans les élevages plus intensifiés, on note une augmentation de la proportion en nanophytoplancton, en abondance comme en biomasse, mais le microphytoplancton reste comparativement peu abondant (Lemonnier et al., 2010). Ces observations sont paradoxales car les bassins sont des milieux hypereutrophes, où les biomasses chlorophylliennes atteignent des valeurs très élevées (entre 30 et 150 $\mu\text{g L}^{-1}$) et on sait qu'il existe en général dans les milieux aquatiques une relation directe entre le degré d'eutrophie et la taille du phytoplancton (Hecky et Kilham, 1988 ; Cloern, 2001). Par ailleurs de nombreux travaux ont montré que la limitation d'un seul nutriment (azote, phosphore ou silice) entraîne une structuration des communautés phytoplanctoniques vers la dominance de petites cellules, souvent inférieures à 3 μm (Chisholm, 1992 ; Herbland et al., 1998). Et ce n'est pas seulement l'échelon primaire qui est affecté, mais toute la structure de taille du réseau trophique planctonique dont elle est la source d'énergie (Riegman et al., 1993 ; Sautour et al., 2000).

Les pratiques culturales telles qu'elles sont appliquées aujourd'hui dans la filière crevette (fertilisation en urée autorisée et phosphore interdit, aliments riches en azote 35-40% de protéines) sont-elles la cause de la dominance des populations picoplanctoniques dans les bassins qui seraient limitées en phosphore ? Une alimentation et/ou une fertilisation plus équilibrée (rapport N/P proches du rapport de Redfield) aboutirait-elle au développement de communautés phytoplanctoniques différentes, en particulier de plus grandes tailles, susceptibles d'être plus favorables aux espèces consommées par les crevettes et être source de fourrage pour le zooplancton et le microbenthos ?

Une demande récurrente de la profession est d'améliorer les taux de survie dans les élevages. Dans ce contexte il est essentiel de décrire les différents processus ayant lieu dans l'environnement « bassin » de façon à mieux appréhender

les conditions favorables au grossissement. L'étude du compartiment phytoplanctonique est donc nécessaire car il intervient dans le « confort » écologique de la crevette. En effet, la production et la consommation de l'oxygène, les variations du pH, les concentrations en sels nutritifs - dont certains sont potentiellement toxiques pour les animaux - dépendent de ce compartiment en interaction avec le fond de bassin. Le fonctionnement écologique du système est dominé par l'apport organique croissant que constitue l'aliment distribué aux crevettes. La colonne d'eau évolue vers une autotrophie croissante alors que le sédiment devient de plus en plus hétérotrophe au fur et à mesure que l'élevage progresse (Lemonnier, 2007). Au cours de ce processus d'eutrophisation, certains élevages présentent une forte variabilité du phytoplancton, variabilité qui a été observée concomitamment à l'apparition des mortalités dans les bassins que ce soit pour le syndrome 93 ou le syndrome d'été (Lemonnier et al., 2006 ; Lemonnier et al., 2010 ; Lucas et al., 2010).

Certaines pratiques culturales telles qu'elles sont appliquées aujourd'hui dans la filière crevette sont-elles là l'origine de cette variabilité du milieu d'élevage ? Une alimentation et/ou une fertilisation plus équilibrée (rapport N/P proches du rapport de Redfield) aboutirait-elle au développement de communautés phytoplanctoniques plus stables sur la durée de l'élevage ?

Pour tenter de répondre à ces questions, la démarche scientifique s'est établie autour de trois principaux points. Tout d'abord, elle s'est fondée sur des observations de terrain en étudiant les communautés phytoplanctoniques dans les bassins de fermes en activité. Puis, des expérimentations en mésocosmes sur le mode de la « batch culture » ont été conduites afin d'identifier les limitations ou les modulations apportées par l'azote et le phosphore sur la croissance du phytoplancton. Cette démarche s'est poursuivie par des expérimentations in situ sur des bassins expérimentaux de production à fond de terre dans le but de reproduire cette culture semi-continue pour observer dans une première expérience l'effet de différentes formes d'azote et de rapports N/P sur les producteurs primaires puis dans une seconde expérience l'effet du niveau d'aliment distribué sur la diversité et l'abondance du phytoplancton.

2.2. Les populations de phytoplancton dans les bassins

Le pico- et le nanophytoplancton

La représentation graphique de la diffusion lumineuse moyenne normalisée ($\text{SSC}/1\mu\text{m}$, liée à la taille des cellules) en fonction de la fluorescence rouge normalisée ($\text{FL3}/1\mu\text{m}$, liée au contenu en Chlorophylle des cellules) sur une échelle logarithmique permet de montrer la diversité cytométrique

de la communauté phytoplanctonique (Figure 3).

Dans l'eau des bassins des fermes échantillonnées, huit principaux groupes cellulaires ont été identifiés et désignés : Syn, Unk, PE, N1, N2, N3, CR. Trois autres groupes ont été identifiés

ponctuellement (R12, R5 et R7). Les signatures cytométriques des groupes *Synechococcus sp.*, Unkown cells (Unk), Picoeucaryotes (PE) les désignent comme faisant parties de la classe de taille du picoplancton ; c'est à dire des cellules non retenues par un filtre de 3 µm de maille. Le nanoplancton (entre 3 et 20 µm) présente une diversité cytométrique plus élevée que le picoplancton. Cependant, 3 classes de taille responsables des

fortes biomasses mesurées dominant le peuplement : les cellules nommées N1, N2, N3 sont des eucaryotes de taille croissante possédant de la chlorophylle. Ces groupes n'ont pas été identifiés d'un point de vue taxonomique. Les cytogrammes montrent la présence de deux groupes dont la signature correspond à des Cryptophytes.

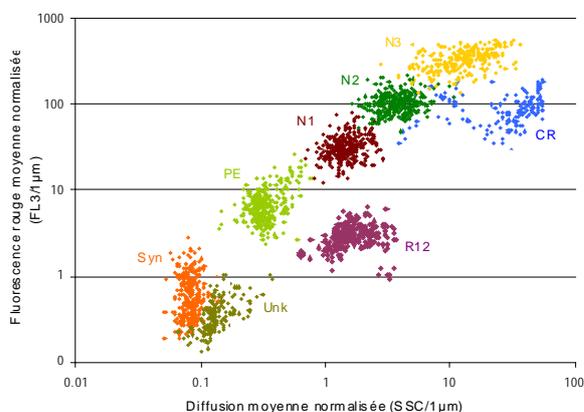


Figure 3 : Caractéristiques cellulaires normalisées des échantillons prélevés dans des bassins d'élevage. Dans l'eau des bassins des fermes échantillonnées, huit principaux groupes cellulaires ont été identifiés et désignés : Syn, Unk, PE, N1, N2, N3, CR. Trois autres groupes ont été identifiés ponctuellement (R12, R5 et R7). Les signatures cytométriques des groupes *Synechococcus sp.*, Unkown cells (Unk), Picoeucaryotes (PE) les désignent comme faisant parties de la classe de taille du picoplancton ; c'est à dire des cellules non retenues par un filtre de 3 µm de maille. Le nanoplancton (entre 3 et 20 µm) présente une diversité cytométrique plus élevée que le picoplancton. Cependant, 3 classes de taille responsables des fortes biomasses mesurées dominant le peuplement : les cellules nommées N1, N2, N3 sont des eucaryotes de taille croissante possédant de la chlorophylle. Ces groupes n'ont pas été identifiés d'un point de vue taxonomique. Les cytogrammes montrent la présence de deux groupes dont la signature correspond à des Cryptophytes.

Le microphytoplancton (> 20 µm)

L'étude de la diversité des algues microplanctoniques repose sur l'observation au microscope inversé de 6 échantillons. Elle a permis de répertorier 18 taxons (Tableau 1). Les Diatomophytes sont les plus présentes, suivies des Dinophytes et enfin des Cyanophytes. Les plus fortes diversités ont été observées au début de l'élevage. Toutefois, comparativement aux eaux lagunaires dans lesquelles une quarantaine de taxon a été identifiée (Jacquet et al., 2006), la diversité microplanctonique dans les bassins reste faible.

Par le passé, des déterminations ont aussi été conduites généralement en association avec des problèmes de mortalités dans les élevages. Il a été identifié *Spirulina meneghiniana Zanardini* en 1993 (Couté, A. MNHN en 1993), *Proto-peridinium steinii* en 2002 (E. Nézan, IFREMER), *Prorocentrum rathymum* (espèce toxique) en 2003 (E. Nézan, IFREMER ; Nagahama, Université de Tokyo) et *Prorocentrum minimum* en 2005.

Tableau 1 : Liste des espèces trouvées dans les bassins

DIATOMOPHYTES
<i>Chaetoceros</i> spp
<i>Coscinodiscus</i> sp (Ehrenberg) Hasle & Sims
<i>Cylindrotheca</i> sp Rabenhorst
<i>Entomoneis</i> spp
<i>Nitzschia longissima</i> (Brébisson) Ralfs
<i>Nitzschia</i> spp
<i>Pleurosigma</i> spp Smith
<i>Pseudonitzschia</i> spp
<i>Rhizosolenia</i> sp Brightwell
DINOPHYTES
<i>Ceratium furca</i> (Ehrenberg) Claparède & Lachmann
<i>Gymnodinium</i> spp Stein
<i>Gyrodinium</i> spp
<i>Heterocapsa</i> sp Stein
<i>Prorocentrum</i> spp
<i>Proto-peridinium</i> sp Berg
CYANOPHYTES
<i>Lyngbya</i> sp Agardh ex Gomont
<i>Oscillatoria</i> sp Vaucher ex Gomont
filament indéterminé

2.3. Evolution des populations dominantes

Méthodologie

Un premier suivi a été réalisé sur la saison de production 2004-2005 sur quatre bassins, deux situés sur la ferme semi-intensive La Sodacal (bassins A et U) et deux sur la ferme intensive Pénéide de Ouano (bassins 4 et 5, Photo 1). Un second suivi a comparé de février à juin 2006 deux bassins

d'élevage semi-intensif, le premier situé à la station Ifremer de Saint-Vincent (Bassin J) et le second sur la ferme SeaFarm (Bassin B, Photo 2). Ce dernier est localisé une ferme affectée par le syndrome d'été depuis 1997 (Lemonnier et al., 2006).



Photos 1 et 2 : vues aériennes de la ferme Pénéide de Ouano (gauche) et Sea Farm (droite)



Résultats

Comparaison intensif - Semi-intensif

Les biomasses chlorophylliennes dans les bassins intensifs augmentent après 60 jours d'élevage pour atteindre des valeurs maximales autour de J120. Dans plus de 50% des cas, les valeurs au cours de l'élevage sont supérieures à $50 \mu\text{g L}^{-1}$. Dans les élevages semi-intensifs, les concentrations ne dépassent que très rarement les $50 \mu\text{g L}^{-1}$ (Figure 4).

La contribution relative du picophytoplancton à la population totale est plus élevée dans les élevages semi-intensifs que les élevages intensifs (Figure 4). Elle est en moyenne respectivement de 81 et de 40%. Le nanophytoplancton est généralement majoritaire au sein des assemblages lorsque les concentrations en Chl a dépassent les $40 \mu\text{g L}^{-1}$.

Comparaison entre élevages semi-intensifs associés ou non à une vibriose

Contexte

Le pathogène, *Vibrio nigripulchritudo* souche hautement pathogène (Reynaud et al., 2008) était présent sur les deux sites. La mortalité a été diffuse, caractérisée par un faible nombre de mortes au bord des deux bassins. A SF, les observations de mortalités ont débuté à J45 pour se terminer à J96 (Figure 5b). Un léger pic de mortalité a été observé à J66. A SV, les morta-

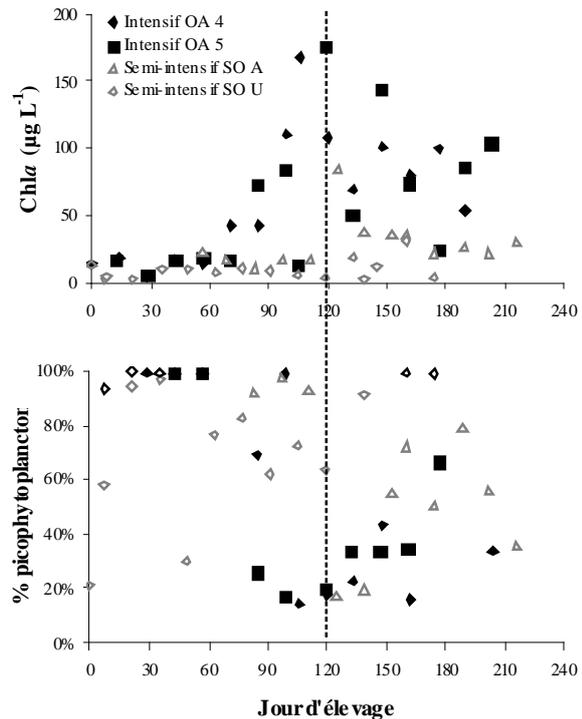
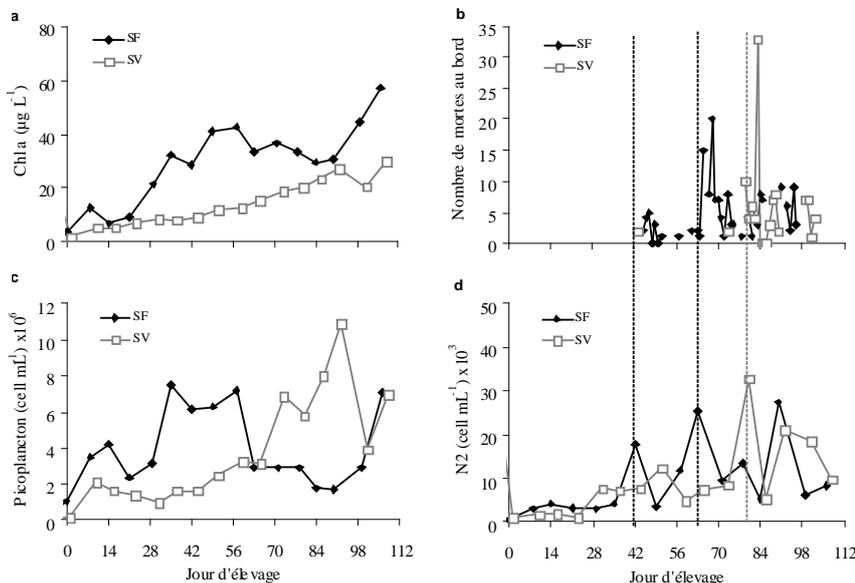


Figure 4 : évolution des concentrations en chlorophylle a et du pourcentage de picoplancton dans la population totale



lités ont débuté plus tardivement (J79). Les survies finales étaient respectivement à SF et à SV de 40 et de 80%.

Les concentrations en chlorophylle a ont augmenté dans les bassins de J0 à J110 pour atteindre un maximum en fin de suivi, respectivement à SV et à SF de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ et de $57 \mu\text{g L}^{-1}$ (Figure 5a). Les valeurs étaient systématiquement plus élevées à SF mais aussi plus

Figure 5 : Evolution des concentrations en chlorophylle a (Chl a), des abondances en picophytoplancton, et en nanophytoplancton de type N2 dans la colonne d'eau des bassins échantillonnés à Seafarm (SF) et à Saint-Vincent (SV). Le graphe b présente le nombre de mortes qui ont été comptabilisées chaque jour sur les berges des bassins.

variables d'un échantillonnage à l'autre.

Les abondances moyennes et maximales étaient du même ordre de grandeur sur les deux fermes (données non montrées). La dynamique des groupes identifiés par cytométrie présente toutefois des différences notables. Le picoplancton a augmenté de manière exponentielle à SV alors que les abondances étaient beaucoup plus variables à SF sur les 100 premiers jours d'élevage (Figure 5b). Le nanoplancton de type N2 montre une succession de pics à SF et à SV. Les pics apparaissent de manière plus précoce à SF qu'à SV et précèdent les mortalités observées sur les berges des bassins (Figure 5c et 5d).

Discussion et conclusions

Les abondances dans les deux bassins suivis, que ce soit en picophytoplancton ou en nanophytoplancton, sont similaires à celles mesurées dans les bassins intensifs lors du suivi réalisé en 2005 sur les fermes Seafarm et Pénide de Ouano (Courties et al., 2005). Les mortalités type Syndrome d'été se sont déclenchées dans le bassin pour lequel on note une eutrophisation plus précoce de la colonne d'eau et une variabilité plus importante des communautés phytoplanctoniques. Ces données confirment les résultats déjà observés dans le cadre du programme DESANS (Harache et Herbland, 2008).

2.4. Etudes en mésocosmes

Réponse des communautés phytoplanctoniques de fond de baie à un apport élevé et ponctuel en sels nutritifs

Méthodologie

Deux séries d'expériences ont été conduites, la première du 17 au 28 août 2006 (série 1) et la seconde du 5 au 13 septembre 2006 (série 2). Pour chaque série, 10 bacs ont été mis en eau pour tester 5 traitements différents : 2 sans fertilisation, 2 fertilisés avec du phosphate sous forme de S.T.P. (P) seul, 2 fertilisés avec de l'urée (N) et du phosphate selon un ratio de 16 (at./at.), 2 fertilisés avec de l'urée et 2 fertilisés avec du nitrate de potassium (KNO3) et du S.T.P. selon un ratio de 16 (at./at.). Les traitements ont été appliqués en début d'expérience.

Résultats

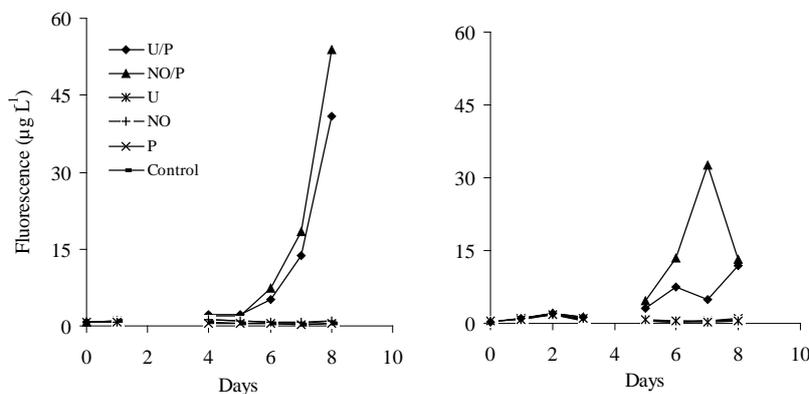
Au cours des deux expériences, les sels nutritifs ont été assimilés par la communauté phytoplanctonique dans les bacs fertilisés à la fois avec de l'azote et du phosphore. L'urée associée au S.T.P. ne montre pas de différence par rapport au traitement associant nitrate et S.T.P. On observe dans ces bacs une augmentation de la fluorescence à partir du 6ème jour pour atteindre un maximum autour du 8ème jour (Figure 6). La dynamique du bloom différait en fonction de la série expérimentale. L'augmentation de la biomasse a pu être attribuée à une croissance de cellules nanophytoplanctoniques malgré une dominance initiale dans les bacs en cellules picophytoplanctoniques. Les analyses des échantillons par cytométrie en flux a aussi montré une croissance des picoeucaryotes à J4 dans

la série n°2 dans les bacs fertilisés, croissance non détectée par le suivi de la fluorescence. Les analyses cytométriques ont également montré dans les bacs fertilisés uniquement avec P une légère augmentation des abondances de *Synechococcus sp.* entre J4 et J8 dans la série 1 et un bloom à J6 dans la série 2 suggérant un possible développement de cyanobactéries diazotrophes (Biegala et Raimbault, 2008).



Photo 3 : Installation expérimentale des mésocosmes

Figure 6 : Evolution de la fluorescence en fonction des traitements pour les deux séries d'expérience (a : série 1 ; b série 2 ; NO : Nitrate ; P : phosphate ; U : urée ; Control : témoin)



Réponse des communautés phytoplanctoniques de fond de baie à un apport élevé et ponctuel en sels nutritifs avec différents rapports stœchiométriques

Méthodologie

Deux séries d'expériences ont été conduites, la première du 4 au 12 juillet 2006 (série 3) et la seconde du 26 juillet au 4 août 2006 (série 4). Pour chaque série, 10 bacs ont été mis en eau pour tester 5 traitements différents : 2 sans fertilisation, 2 fertilisés avec uniquement de l'urée, 2 fertilisés avec de l'urée et du S.T.P. selon un ratio de 5 (at./at.), 2 fertilisés avec de l'urée et du S.T.P. selon un ratio de 16 (at./at.) et 2 fertilisés avec de l'urée et du S.T.P. selon un ratio de 45 (at./at.). Les traitements ont été appliqués en début d'expérience.

Résultats

Ces expériences confirment les résultats obtenus précédemment avec une augmentation de la fluorescence à partir du 6ème jour pour atteindre un maximum autour du 8ème dans les bacs fertilisés à la fois avec de l'azote et du phosphore (Figure 7). La dynamique phytoplanctonique varie significativement ($p < 0.05$) en fonction de la série expérimentale. Cette expérience n'a pas permis de montrer un effet des rapports stœchiométriques (N/P5, N/P16 et N/P45) sur l'intensité des blooms. Là encore, l'augmentation de la biomasse dans les bacs fertilisés avec N et P doit être associée à une croissance des algues nanoplanctoniques (Figure 8).

Discussion et conclusions

L'ajout d'un seul élément, N ou P, influe pas ou peu sur la biomasse phytoplanctonique initiale. En revanche, l'ajout simul-

tané des deux éléments a pour réponse un accroissement de la biomasse chlorophyllienne et une modification des communautés phytoplanctoniques. Ces résultats sont conformes à ce qui a été observé dans une grande variété d'écosystèmes marins (Agawin et al., 2000). Ils suggèrent aussi une co-limitation par l'azote et le phosphore des eaux de fond de baie comme observée par exemple pour les eaux oligotrophes du bassin Est-méditerranéen (Kress et al., 2005 ; Zohary et al., 2005) mais aussi une capacité importante des communautés phytoplanctoniques du lagon à se développer dans des milieux déséquilibrés en N ou en P. Ces résultats doivent être confrontés à ceux de Jacquet et al. (2005) qui suggéraient à travers l'analyse des rapports N/P une limitation uniquement par l'azote pour les eaux lagunaires.

Au cours des quatre expériences le bloom phytoplanctonique prend son essor à partir du 6ème jour pour culminer au 8ème ou au 9ème jour. Ce pic de biomasse ne se maintient que très peu de temps à son niveau maximal. Lors d'une expérience préliminaire qui avait eu lieu en été (résultats non publiés), le bloom est apparu plus rapidement en atteignant son pic maximal au 5ème jour. Que ce soit en été ou en hiver, la phase de croissance est relativement longue comparativement à celles observées dans d'autres expériences en mésocosmes (Agawin et al., 2000 ; Kress et al., 2005 ; Zohary et al., 2005). Cette latence de la réponse phytoplanctonique est toutefois conforme à ce qui a été observé en bassin de production sur le territoire (Lucas et al., 2010).

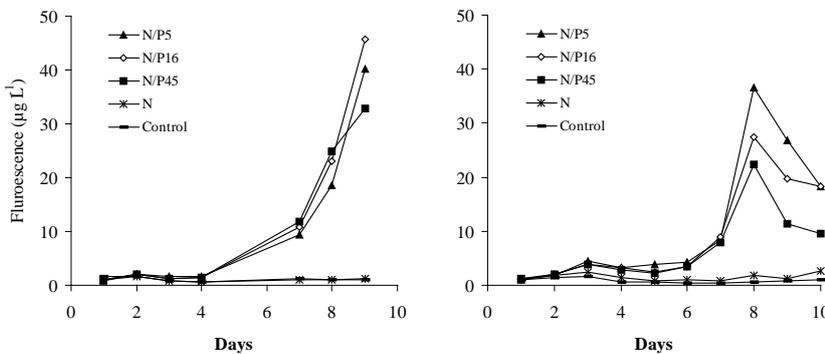


Figure 7 : Evolution de la fluorescence en fonction des traitements pour les deux séries d'expérience (N : azote ; P : phosphore ; Control : témoin)

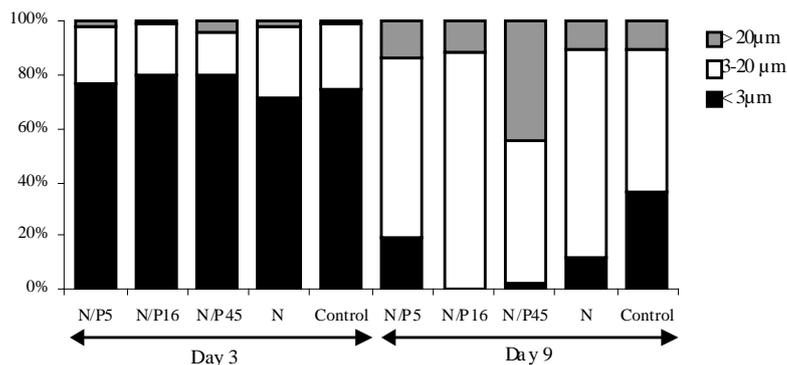


Figure 8 : Evolution des classes de taille en terme de biomasse chlorophyllienne entre J3 et J9 dans la série 4

2.5. Expérimentations en bassins de terre

Les études ont été réalisées sur le site de la station aquacole de Saint-Vincent dans des bassins en terre d'environ 1500 m². Deux séries de fertilisation ont été réalisées. La première visait à tester les apports en urée, en nitrate et en phosphate sur le compartiment phytoplanctonique. L'objectif était d'entretenir un niveau de biomasse chlorophyllienne compatible

avec le « bon fonctionnement du bassin ». Il s'agissait de trouver les paramètres pour lesquels la biomasse phytoplanctonique était la moins variable possible. La seconde visait à tester une fertilisation organique en augmentant l'alimentation des animaux sur l'eutrophisation de l'écosystème.

Effet des apports en urée, nitrate et phosphore sur les communautés phytoplanctoniques

Méthodologie

Les animaux ont été ensemencés le 22 février 2007 à une densité initiale de 18 crevettes.m⁻². La ration alimentaire a été calculée à partir d'une courbe de nutrition théorique (calculée à partir du nombre estimé d'animaux et du poids moyen obtenu par échantillonnage, le taux de nutrition est alors mis en relation avec le poids moyen selon une table de conversion) et ajustée à la biomasse présente dans chaque bassin en fonction des restes d'aliment observés ou non sur des man-

goires immergées. Le protocole de fertilisation a été établi de la manière suivante : deux bassins ont été fertilisés à l'urée et au phosphore (TSP), deux avec des nitrates (KNO₃) et du phosphore (TSP) et deux avec de l'urée seule, traitement considéré comme témoin de la situation pratiquée actuellement sur le territoire. L'engrais a été apporté une fois par semaine en début d'élevage puis à chaque renouvellement d'eau à partir de J-3 (Figure 9). La fertilisation a été arrêtée trois semaines avant la pêche.

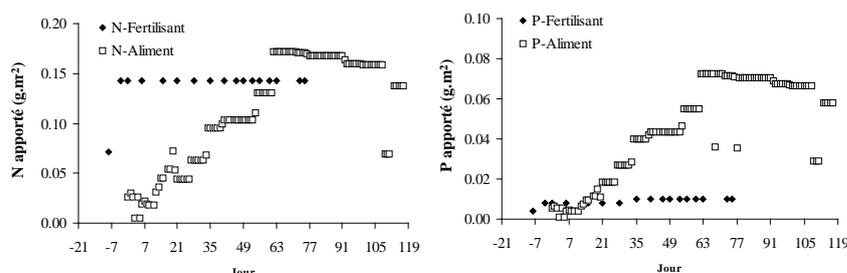


Figure 9 : Apport en azote et en phosphore dans les bassins sous forme de fertilisants et d'aliment. Pour le phosphore, seul 4 bassins (2 traitements U/P et 2 traitements N/P) ont été fertilisés avec cet élément. Pour l'azote, 4 bassins ont été fertilisés avec de l'urée (témoins et traitement U/P) et 2 avec du nitrate (traitement N/P). Un gramme d'aliment contient environ 66 mg d'azote et 14 mg de phosphore.

Résultats

Cette expérience a été conduite dans un contexte pathologique. Une légère mortalité a été observée sur l'ensemble des bassins entre J55 et J87. Elles ont été associées à la présence de *V. nigripulchritudo*, souche HP. Après 119 jours d'élevage, la survie était comprise entre 52 et 79%. Cette mortalité est apparue parallèlement à une augmentation de la biomasse phytoplanctonique dans les bassins (Figure 10).

Au cours de cette expérience, aucune tendance permettant de distinguer l'effet d'un traitement par rapport à un autre n'a pu être mise en évidence. La dynamique phytoplanctonique était similaire dans tous les bassins. Immédiatement après la mise en eau, suite à une augmentation des concentrations en sels nutritifs dans la colonne d'eau, la teneur en chlorophylle a a atteint des valeurs élevées. Ce pic de biomasse est retombé très rapidement avant l'ensemencement des crevettes (Figure 10).

On observe par la suite une croissance régulière de Chl a jusqu'à un maximum à J69. Elle s'explique par une augmentation des abondances en picophytoplancton. Après ce pic, les valeurs ont rapidement chuté pour se stabiliser autour de 30 µg Chl a l⁻¹ jusqu'à la pêche finale. Le picophytoplancton était le groupe dominant durant tout l'élevage et dans tous les bassins. Il représentait généralement plus de 95 % des abondances. L'analyse de l'évolution des abondances relatives de chaque groupe cytométrique confirme bien l'absence d'un

effet « traitement ». Toutefois, la variabilité inter-bassins (effet pseudo-aléatoire), de par leur positionnement géographique, permettrait d'expliquer les différences observées (Figure 11).

Discussion et conclusions

La quantité d'engrais azoté apportée lors de cette expérience était du même ordre de grandeur que celle apportée généralement par les professionnels de la filière dans leurs bassins. Les quantités distribuées au cours de cette expérience n'étaient pas négligeables comparativement à l'azote apporté par l'alimentation. La fertilisation azoté sous forme de nitrate ou d'urée a donné des résultats similaires. L'arrêt de la fertilisa-

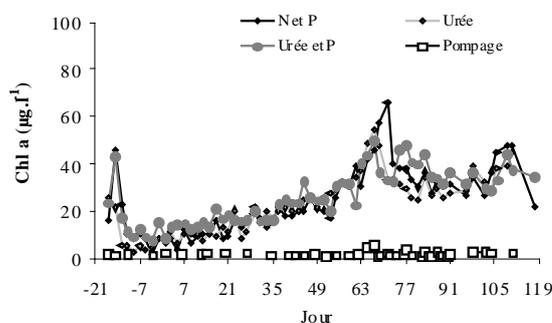


Figure 10 : Evolution des concentrations en Chl a pour chaque traitement

tion s'est traduit par une baisse significative de la biomasse

chlorophyllienne dans tous les bassins suggérant un effet significatif de cette pratique sur le milieu. L'apport de phosphore sous forme de fertilisant dans 4 bassins sur les 6 n'a eu aucune conséquence notable. Ce résultat pourrait suggérer

que le phosphore n'était pas un facteur limitant pour la croissance du phytoplancton.

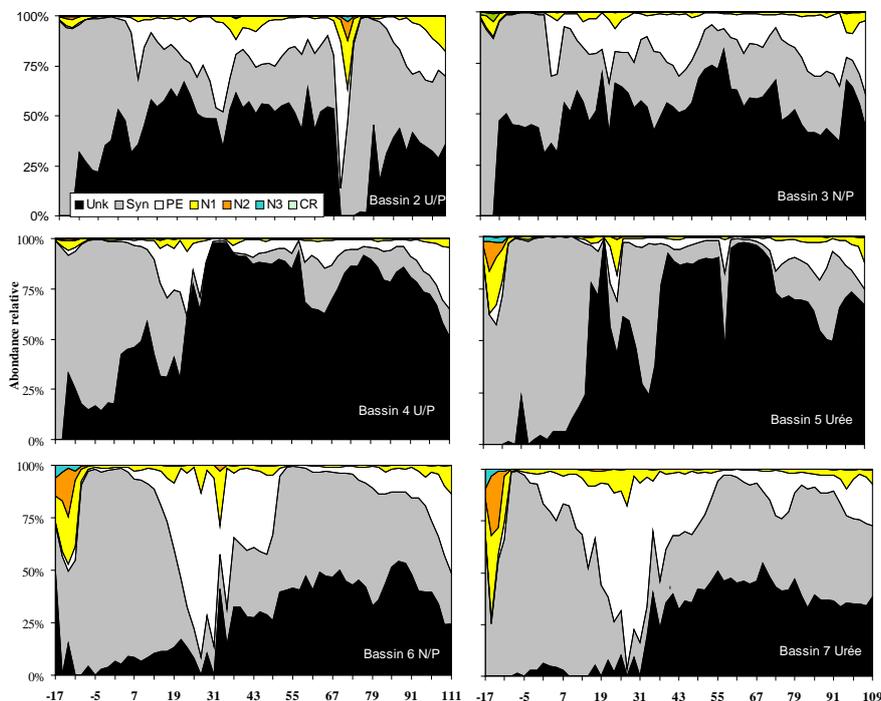


Figure 11 : Evolution des abondances relatives pour chaque groupe cytométrique. On observe une dominance du groupe UNK dans la colonne d'eau des bassins. Les bassins 2 et 3 d'une part, 4 et 5 d'autre part et enfin 6 et 7 présentent des évolutions similaires de leurs communautés phytoplanctoniques.

Effet de la fertilisation organique par l'alimentation sur les communautés phytoplanctoniques

Méthodologie

L'ensemencement a eu lieu le 22 août 2007 dans 6 bassins de 1500 m² avec des post larves P20 à une densité moyenne de 18,2 animaux.m⁻². La ration alimentaire a été calculée à partir d'une courbe de nutrition théorique. Le suivi de la consommation de l'aliment par les crevettes a pris pour cette expérimentation une importance particulière. En effet, deux modes de gestion de l'alimentation ont été appliqués : une nutrition moins (F-), minimisant au maximum les restes sur les mangeoires et une nutrition plus (F+) ne tenant pas ou peu compte des restes observés (Figure 12).

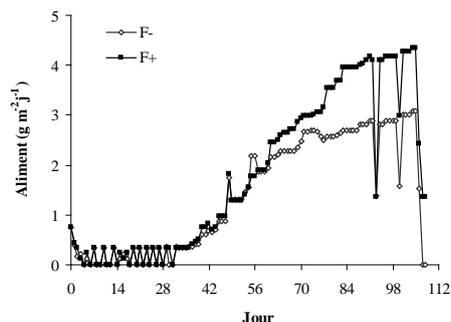


Figure 12 : Quantité d'aliment distribué par semaine dans chaque bassin pour chaque traitement

Résultats

Une légère mortalité a été observée sur l'ensemble des bassins entre J52 et J98. Elles ont été associées à la présence de *V. nigripulchritudo*, souche HP (Walling et al., 2009). Même si les mortalités comptabilisées sur les berges ont été plus élevées pour le traitement F+ que pour le traitement F-, les survies finales n'ont pas montré de différence significative (53% en moyenne pour les deux traitements). Le poids final était de 11 g quel que soit le traitement.

Cette expérience montre un effet significatif ($p > 0.05$) du traitement (F+/F-) sur le compartiment phytoplanctonique (biomasse chlorophyllienne, abondance en picoeucaryotes et en nanophytoplancton de type N3) et sur le compartiment bactérien (abondance totale, abondances en HNA et LNA). Après une baisse des concentrations sur les deux premières semaines, on observe une croissance régulière de la Chl a jusqu'à la fin des élevages (Figure 13).

L'observation des abondances relatives des groupes du picot et du nanophytoplancton montre, encore une fois, la dominance du picophytoplancton durant l'élevage à l'exception des tous premiers jours où les différents groupes étaient bien représentés. Par la suite, la population *Synechococcus* sp. devient dominante jusqu'au jour 50. Cette place est ensuite prise par les picoeucaryotes puis alternativement par les cellules du groupe Unk et *Synechococcus* sp.

Discussion et conclusions

Le niveau d'alimentation des élevages influence directement le niveau d'eutrophisation des bassins. Toutefois, la biomasse phytoplanctonique est restée au cours de ces expériences dans une gamme de valeurs relativement faible comparativement aux valeurs mesurées dans les bassins de production

(Lemonnier et al., 2006, 2010 ; Thomas et al., 2010). Cette différence s'explique par une alimentation très peu « agressive » même pour le traitement F+, comparativement à ce qui est appliqué actuellement dans la filière crevette de Nouvelle-Calédonie (Figure 14).

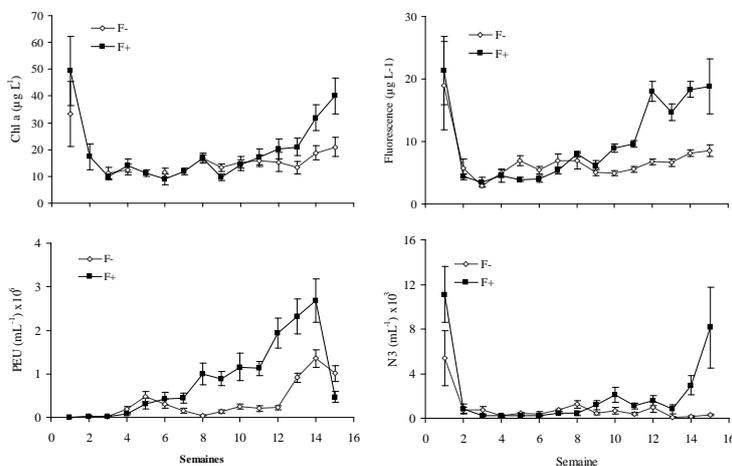
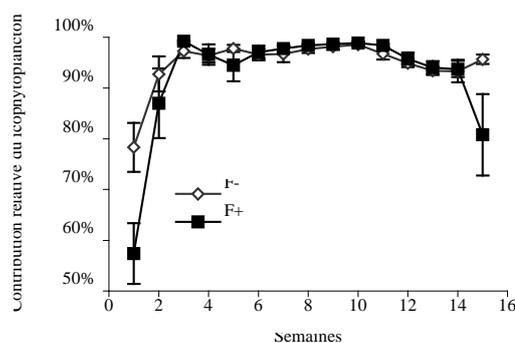


Figure 13 : Evolution des concentrations en Chl a, de la fluorescence, des abondances en picocaryotes (PEU) et en nanophytoplancton de type N3 pour chaque traitement (F- : alimentation moins ; F+ : alimentation plus)

Figure 14 : Contribution relative de l'abondance en picophytoplancton en fonction des traitements



2.6. Conclusion générale

Les communautés issues d'une eau provenant du proche lagon sont freinées dans leur croissance par la disponibilité restreinte d'azote et de phosphore. Ce verrou nutritif qui contrôle l'écosystème dans le lagon se trouve supprimé au niveau du bassin aquacole par un apport continu de nutriments sous forme de matière organique apportée par l'aliment pour nourrir les animaux et par un apport ponctuel, en général en début d'élevage, sous la forme d'engrais azotés.

Le réseau trophique qui se met alors en place dans la colonne d'eau des élevages semi-intensifs est dominé par une population picophytoplanctonique active et plurispécifique associée à une boucle microbienne très active (Lemonnier et al., 2010, Lucas et al., 2010). Ce système peut se maintenir durant tout un élevage parce que les éléments qui le dirigent, comme l'apport en nutriments, les renouvellements d'eau évacuant les déchets, ou la croissance des animaux, se déroulent de la façon la plus régulière possible et s'approchent ainsi des caractéristiques d'une culture continue.

Ceci étant dit, un apport significatif et soudain de nutriments pourrait entraîner un renversement ponctuel de la domina-

tion du picophytoplancton sur le nanophytoplancton et modifier dès lors la relation établie entre les bactéries et le compartiment phytoplanctonique (Lucas et al., 2010). Cet apport peut être du à l'éleveur lorsqu'il distribue des fertilisants comme le montre les études en mésocosmes ou à une augmentation des flux à l'interface eau-sédiment sous l'action du vent et/ou des aérateurs comme le montrent les études en bassin (Lemonnier, 2007). Ce renversement des populations devient durable pour les élevages intensifs caractérisés par des apports plus importants en aliment. Dans la mesure où la taille des producteurs primaires conditionne leur point d'insertion dans les réseaux trophiques planctoniques, ces modifications de structure de taille permettent de supposer que les conséquences trophiques des enrichissements sont plus importantes que celles montrées dans nos études.

La première expérience de fertilisation réalisée en bassins de terre n'a pas permis de distinguer l'effet d'un traitement par rapport à un autre. Contrairement à ce qui a été observé lors des expériences en mésocosmes, durant laquelle aucune croissance phytoplanctonique ne s'était faite après l'ajout

d'un seul élément nutritif, les différentes populations phytoplanctoniques ont pu croître dans tous les bassins même ceux uniquement fertilisés à l'urée. Les sources d'éléments nutritifs sont bien évidemment plus nombreuses dans un système comme le bassin aquacole à fond de terre, ce qui expliquerait pourquoi, même sans ajout de phosphore, le phytoplancton a pu croître. Toutefois les teneurs en phosphates mesurées dans les bassins étaient généralement très basses et à la limite des seuils de détection comme généralement observé plus généralement dans les élevages calédoniens (Lemonnier, 2007). Les expériences conduites en mésocosmes suggèrent aussi une capacité des populations phytoplanctoniques à se développer dans des milieux pour lesquels les rapports N/P sont très éloignés du rapport de Redfield. Ces études ne montreraient donc pas l'utilité, dans les conditions actuelles d'élevage, de fertiliser les bassins avec des engrais phosphorés. L'azote serait le nutriment le plus limitant pour la production primaire. La seconde expérience en bassins de terre montre que le niveau d'eutrophisation dépend directement de l'ap-

port en aliment. De sa gestion va dépendre le niveau d'eutrophisation du milieu.

Que ce soit pour le syndrome d'été ou pour le syndrome 93, les fortes mortalités de crevettes dans les bassins de production ont été observés concomitamment à des changements brutaux du milieu avec en particulier un évolution brutale de la composition des communautés phytoplanctoniques (Lemonnier et al., 2006, Lemonnier et al., 2010, Lucas et al., 2010), sans pour autant qu'une relation de cause à effet puisse être établie. Une stabilisation du milieu avait été envisagée comme moyen de lutte contre ces maladies. Dans les expériences en bassin de terre décrites ci-dessus, la stabilisation du milieu a bien été obtenue mais ne s'est pas accompagnée d'un arrêt des mortalités. Elles ont été toutefois plus faibles (mortalités chroniques) comparativement aux mortalités observées (pics de mortalités successifs et massifs) dans des milieux plus perturbés (Lemonnier et al., 2006, Lemonnier et al., 2010), observations faites hors cadre expérimental.

3. Références bibliographiques

- Agawin, N.S.R., Duarte, C.M., Agusti, S. 2000. Nutrient and temperature control of the contribution of picoplankton to phytoplankton biomass and production. *Limnol. Oceanogr.* 45, 591-600.
- Biegala, I.C., Raimbault, P. 2008. High abundance of diazotrophic picocyanobacteria (<3 µm) in a Southwest Pacific coral lagoon. *Aquatic Microbial Ecology* 51:45-53.
- Brun, P., Della Patrona, L., Dufour, R., Goyard, E., Herbland, A., Lambert, C., Patrois, J., Peignon, J.M., Pham, D., Pita, E., Soulard, B. 2007. Contribution de l'Ifremer au rapport final du GFA sur les expérimentations dites de « sortie de crise » menées sur la ferme AIGUE-MARINE durant la saison 2006 / 2007. Rapport d'avancement rédigé dans le cadre du contrat Ifremer-nc/2006-426. 49 pp.
- Chevassus, B., Bœuf, G., Chardy, P., Mazel, D., 2006. Rapport d'évaluation du projet DESANS (Défi SANTé Stylirostris) de l'Ifremer : 24 pp.
- Chisholm, S.W. 1992. Phytoplankton size. In : Falkowski, P.G. and Woodhead, A.D. (eds.). *Primary productivity and biogeochemical cycles in the sea*. Plenum Press, New York, pp. 213-237.
- Cloern, J.E. 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 210, 223-253.
- Courties, C., Lemonnier, H., Herbland, A., 2005. Structure et évolution des peuplements picoplanctoniques de bassins aquacoles mesurés en cytométrie en flux lors des deux syndromes en Nouvelle Calédonie. Ecosystèmes et crevetticulture en Nouvelle-Calédonie : Séminaire organisé par l'IFREMER à Nouméa du 22 au 24 juin 2005. Communication orale.
- Debenay, J.P., Della Patrona, L., Herbland, A., Goguenheim, H., 2009a. The impact of easily oxidized material (EOM) on the meiobenthos: Foraminifera abnormalities in shrimp ponds of New Caledonia; implications for environment and paleoenvironment survey. *Marine Pollution Bulletin*, 59, 323-335.
- Debenay, J.P., Della Patrona, L., Goguenheim, H., 2009b. Colonization of coastal environments by Foraminifera; insight from shrimp ponds in New Caledonia (SW Pacific). *Journal of Foraminiferal Research*, vol. 39, no. 4, pp.249-266.
- Della Patrona, L., Beliaeff, B., Debenay J.-P., Herbland, A., 2011. Mise en évidence de variables biologiques et biogéochimiques discriminantes de l'état de fonctionnement des bassins d'élevage de crevettes de mer *Litopenaeus stylirostris* en Nouvelle Calédonie- Sélection d'indicateurs de la qualité des sédiments. Ifremer LEAD RST/2011-01, 155 pp.
- Dell'Arno, A., Mei, M.L., Pusceddu, A., Danovaro, R., 2002. Assessing the trophic state and eutrophication of coastal marine systems: a new approach based on the biochemical composition of sediment organic matter. *Marine Pollution Bulletin*, 44, 611-622.
- Enger, O., Husevåg, B., and Goksøyr, J. 1989. Presence of the fish pathogen *Vibrio salmonicida* in fish farm sediments. *Appl Environ. Microbiol.*, 55, 2815-2818.
- Hecky, R.E., Kilham, P. 1988. Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments : a review of recent evidence on the effects of enrichment. *Limnol. Oceanogr.* 33, 796-822.
- Herbland, A., Delmas, D., Laborde, P., Sautour, B., Artigas, F. 1998. Phytoplankton spring bloom of the Gironde plume waters in the Bay of Biscay : early phosphorus limitation and food-web consequences. In : *Océanographie du Golfe de Gascogne. Vème Colloq. Int.*, La Rochelle, 16-18 avril 1996. Her-

- bland, A., Quéro, J.C. (coord.). Actes Colloq., Oceanol. Acta 21, 279-291.
- Herbland, A., Harache, Y. 2008. Santé de la crevette d'élevage en Nouvelle-Calédonie. Editions Quae: 142 pp.
- Jacquet, S., Delesalle, B., Torrétion, J-P., Blanchot, A. 2006. Responses of the phytoplankton communities to increased anthropogenic influences (Southwestern Lagoon, New Caledonia). Mar. Ecol. Prog. Ser. 320, 65-78.
- Kress, N., Thingstad, T. F., Pitta, P., Psarra, S., Tanaka, T., Zohary, T., Groom, S., Herut, B., Mantoura, R.F.C., Polychronaki, T., Rassoulzadegan, F. et Spyres, G. 2005. Effect of P and N addition to oligotrophic Eastern Mediterranean waters influenced by near-shore waters: A microcosm experiment. Deep-Sea Research Part II -Tropical Studies in Oceanography 52, 3054-3073.
- Lemonnier, H. 2007. Effet des conditions environnementales sur le déclenchement des pathologies à *Vibrio* dans les élevages de crevettes de Nouvelle-Calédonie. Thèse de Doctorat de l'Université de La Rochelle. Discipline Océanologie Biologique. 203 pp.
- Lemonnier, H., Herbland, A., Salery, L., Soulard, B. 2006. "Summer syndrome" in *Litopenaeus stylirostris* grow out ponds in New Caledonia: Zootechnical and environmental factors. Aquaculture 261:1039-1047.-
- Lemonnier, H., Courties, C., Mugnier, C., Torrétion, J-P., Herbland, A. 2010. Nutrient and microbial dynamics in eutrophying shrimp ponds affected or unaffected by vibriosis. Marine Pollution Bulletin 60, 402-411.
- Lucas R., Courties C., Herbland A., Gouletquier P., Marteau A-L., Lemonnier H. 2010. Eutrophication in a tropical pond: Understanding the bacterioplankton and phytoplankton dynamics during a vibriosis outbreak using flow cytometric analyses. Aquaculture 310, 112-121.
- Manini, C., Fiordelmondo, C., Gambi, C., Pusceddu, A., Danovaro, R., 2003. Benthic microbial loop functioning in coastal lagoons: a comparative approach. Oceanologica Acta, 26, 27-38.
- Reynaud, Y., Saulnier, D., Mazel, D., Goarant, C., and Le Roux, F. 2008. Correlation between detection of a plasmid and high-level virulence of *Vibrio nigripulchritudo*, a pathogen of the shrimp *Litopenaeus stylirostris*. Appl. Environ. Microbiol., 74, 3038-3047.
- Riegman R., Kuipers B.R., Noordeloos A.A.M., Witte H.J. 1993. Size-differential control of phytoplankton and the structure of plankton communities. Neth. J. Sea Res. 31, 255-265.
- Sautour B., Artigas L.F., Delmas D., Herbland A., Laborde P. 2000. Grazing impact of micro- and mesozooplankton during a spring situation in coastal waters off the Gironde estuary. J. Plankton Res. 22, 531-552.
- Thomas Y., Courties C., El Helwe Y., Herbland A., Lemonnier H. 2010. Spatial and temporal extension of eutrophication associated with shrimp farm wastewater discharges in the New Caledonian Lagoon. Marine Pollution Bulletin 61, 387-398.
- Walling, E., Vourey, E., Ansquer, D., Beliaeff, B., and Goarant, C. 2010. *Vibrio nigripulchritudo* monitoring and strain dynamics in shrimp pond sediments. J. Appl. Microbiol., 108, 2003-2011.
- Zohary, T., Herut, B., Krom, M.D., Mantoura, R.F.C., Pitta, P., Psarra, S., Rassoulzadegan, F., Stambler, N., Tanaka, T., Thingstad, T.F. et Woodward, E.M.S. 2005. P-limited bacteria but N and P co-limited phytoplankton in the Eastern Mediterranean - a microcosm experiment. Deep-Sea Research Part II-Tropical Studies in Oceanography 52, 3011-3023.



Pathologie, Infection et Épidémiologie

1. Introduction

1.1. Contexte économique et scientifique

Depuis deux décennies, la production de crevettes pénaïdes en Nouvelle-Calédonie est confrontée à deux bactérioses à caractère septicémique, qui freinent le développement économique de cette filière, ramenant la production à des niveaux bien en deçà des prévisions initiales. La première, désignée « syndrome 93 » ou « syndrome d'hiver », est apparue en 1993 de façon simultanée sur deux sites de production proches géographiquement (Mermoud et al., 1998). Il s'agit d'une vibriose s'exprimant de façon saisonnière et dont l'agent étiologique est *Vibrio penaeicida* (Costa et al., 1998 ; Mermoud et al., 1998 ; Goarant et al., 1999 ; Saulnier et al., 2000). L'épizootie s'est rapidement répandue à l'ensemble des fermes de crevettes, conduisant les éleveurs à arrêter la production en hiver. La seconde bactériose, désignée « syndrome d'été », a été diagnostiquée fin 1997 sur un site de production au cours de la saison chaude. Par la suite, deux autres fermes proches géographiquement, ainsi que la station Ifremer de Saint-Vincent, ont été affectées à leur tour, indiquant une extension de ce syndrome. Cette maladie, dont l'agent étiologique est *V. nigripulchritudo*, s'exprime après environ 50 jours d'élevage, sous forme de flambées épizootiques récurrentes d'une année sur l'autre. Plus récemment, des épisodes de mortalités de crevettes en relation à cette espèce bactérienne ont été rapportés au Japon en 2005 (Sakai et al., 2007) et à Madagascar en 2007, laissant craindre désormais une propagation de cette vibriose dans l'océan indo-pacifique.

Chez la crevette, la gestion du risque zoonositaire est limitée

et il existe peu de possibilités d'actions pour protéger les cheptels vis à vis des pathologies infectieuses, qu'elles soient bactériennes ou virales. Leur mode d'élevage ainsi que l'interdiction d'utilisation des antibiotiques dans la phase de grossissement rendent les moyens thérapeutiques existants inapplicables à l'échelle d'une ferme. A cela s'ajoutent des caractéristiques propres aux invertébrés, comme l'absence d'immunité dite « adaptative » ou « à mémoire cellulaire », qui ne permet pas d'envisager chez ces espèces l'application de traitements préventifs, à l'image de la vaccination pratiquée chez certaines espèces de poissons (Somerset et al., 2005). Les actions possibles reposent donc essentiellement sur deux approches complémentaires consistant d'une part à éviter l'infection et d'autre part à contrôler les maladies lorsqu'elles se sont déclenchées. Le développement d'une prophylaxie efficace en crevetticulture nécessite par conséquent une bonne connaissance des agents étiologiques à l'origine de ces maladies, en l'occurrence ici *V. nigripulchritudo* et *V. penaeicida*. Face à ce constat, l'objectif de recherche de notre groupe est d'étudier les mécanismes moléculaires impliqués dans l'émergence de *Vibrio* pathogènes d'invertébrés marins par une approche intégrative associant trois aspects: l'épidémiologie moléculaire (diversité génétique des bactéries en lien avec une maladie ou avec un habitat); la génomique comparative et fonctionnelle (identification d'éléments génétiques impliqués dans la virulence ou la résistance); et la pathologie (interactions hôte-pathogène).

1.2. Bref état des connaissances des vibrioses en Nouvelle-Calédonie

Depuis la survenue des premières mortalités de crevettes en Nouvelle-Calédonie, plus de 300 souches ont été isolées d'animaux souffrant du « Syndrome 93 », du « Syndrome d'été » ou d'autres contextes et sites géographiques. Ces souches ont été génotypées (séquençage de plusieurs gènes, phylogénie) et testées en infection expérimentale (Goarant et al., 1999; Goarant et al., 2006b).

Cette démarche systématique a permis de démontrer que toutes les souches appartenant à l'espèce *V. penaeicida*, considérées comme pathogènes, apparaissaient proches d'un point de vue génomique. Par ailleurs, en milieu de culture, cette espèce excrète des facteurs toxiques pour la crevette à 20°C et non à 28°C, ce qui coïncide aux conditions de température du Syndrome 93 (Goarant et al., 2000).

En ce qui concerne l'espèce *V. nigripulchritudo*, la structure génétique de la collection a révélé l'existence de trois clades¹ distincts.

Le clade 1 (C1, Figure 15) regroupe les souches isolées lors d'épisodes de syndrome 93, souches qui cohabitaient donc avec *V. penaeicida*. Des expériences d'infections expérimentales ont montré que la majorité de ces souches sont hautement pathogènes (HP). Le clade 2 (C2) contient les souches isolées de crevettes souffrant de septicémie à *V. nigripulchritudo* à Madagascar, tandis que le clade 3 (C3) comprend toutes les souches isolées lors du « syndrome d'été ». Ce clade regroupe des souches de différents pathotypes, moyennement pathogènes (MP) et HP. Les isolats non pathogènes (NP) apparaissent plus diversifiés.

Afin d'identifier des marqueurs moléculaires permettant de détecter uniquement les souches HP du clade 3, une banque génomique soustractive a été réalisée à partir des souches SFn1 (HP) et SFn118 (NP). Les résultats obtenus ont mis en évidence l'existence chez la souche HP d'un plasmide de 12 kpb (d'abord désigné pSFn1, aujourd'hui renommé pB1067) (Reynaud et al., 2008). La corrélation entre la présence de ce plasmide et le statut HP des souches laisse suggérer que cet

élément génétique pourrait porter un (des) déterminant(s) génétique(s) important(s) de la pathogénie de cette espèce bactérienne.

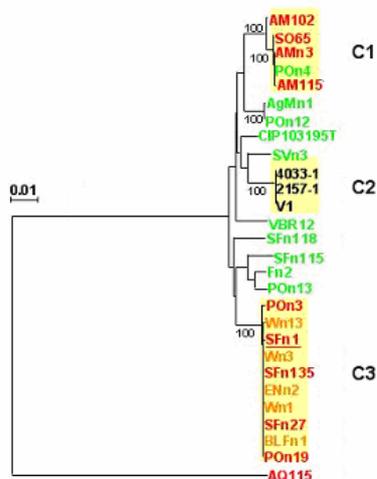


Figure 15 : Collection de souches *V. nigripulchritudo*. L'arbre phylogénétique (Neighbour Joining) est basé sur 2141 bp de séquences concatémériques (*gyrB*, *rctB* et *rpoD*) obtenues pour 27 souches représentatives de *V. nigripulchritudo* ; *V. penaeicida* (souche AQ115) est utilisé comme groupe externe (source : Frédérique Le Roux)

1 Groupement de plusieurs embranchements d'espèces ayant une origine commune

1.3. Objectifs de l'action 2 dans le cadre du programme DEDUCTION

Comme cela a été précisé en introduction, les moyens de lutte vis à vis des vibrioses sont réduits et nécessitent une meilleure compréhension de ces deux syndromes. Dans le cadre du programme DEDUCTION, les thématiques de recherche développées par notre groupe ont donc eu pour objectif principaux d'accroître les connaissances de ces deux vibrioses et d'utiliser ces nouvelles connaissances pour améliorer les outils diagnostics.

- Chez *V. nigripulchritudo*, une approche de génomique fonctionnelle a été entreprise par Frédérique Le Roux (chercheur IFREMER invitée pour deux années dans l'équipe de Matthew Waldor à Harvard Medical School, Boston, USA) afin de mettre en évidence le rôle du plasmide pB1067 dans la virulence.
- Chez *V. penaeicida*, nous avons tenté d'identifier le (ou les) facteur(s) à l'origine de l'effet toxique des surnageants de culture, puis de rechercher le support génétique de ce(s) facteur(s). Ce travail a fait l'objet d'une collaboration avec Cyrille Goarant (Laboratoire de Recherche en Bactériologie, Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie).

Les résultats des recherches « amont », comme le génotypage ou l'identification de plasmides, ont permis la validation du lien génotype-pathotype sur un grand nombre de souches, et ont conduit à la mise au point de nouveaux outils de diagnostics rapides et pertinents puisque qu'ils nous permettent de détecter des souches virulentes, voire très virulentes par une simple

PCR. L'optimisation des protocoles a visé à élargir les possibilités d'échantillonnage, en particulier l'analyse de sédiment

Enfin, un programme visant à réduire les mortalités survivant en élevage larvaire de crevettes a été initié. La cause de ces mortalités demeure méconnue, aucun agent pathogène n'ayant pu être isolé à ce jour. L'utilisation d'antibiotiques permettant fréquemment de remédier à ce phénomène, le rôle des bactéries est suspecté. Toutefois, l'antibiothérapie pose de nombreux risques environnementaux et sanitaires, notamment liés à l'émergence de souches bactériennes résistantes (Karunasagar et al., 1994; Bachère, 2000). Les efforts de recherche se tournent donc vers des solutions alternatives, telles que le recours aux bactéries probiotiques, proscrite par la filière, en grossissement. Des travaux visant à sélectionner des bactéries marines présentant un caractère probiotique et qui soient utilisables pour améliorer la survie des élevages larvaires de *L. stylirostris* ont donc également été mis en oeuvre.

2. Caractérisation des facteurs de pathogénie de *V. nigripulchritudo* et *V. penaeicida*

2.1. Implication des éléments génétiques mobiles dans la virulence de *V. nigripulchritudo*

Afin de déterminer l'implication du plasmide pB1067 dans la virulence de *V. nigripulchritudo*, une approche de génomique fonctionnelle a été développée avec pour objectif i) d'enlever le plasmide pB1067 d'une souche HP, ii) de le transférer dans des souches MP ou NP et iii) d'identifier le(s) gène(s) impliqué(s) par mutagenèse.

Rôle du plasmide pB1067 dans la virulence

L'élimination (ou curage) du plasmide pB1067 de la souche hautement pathogène SFn1 a été effectuée grâce à l'introduction, par conjugaison, d'un vecteur portant la même origine de répllication que pB1067 (deux plasmides possédant un même type d'origine de répllication ne pouvant coexister au sein d'une cellule bactérienne). Le curage du plasmide a ensuite été contrôlé par PCR et par mini-préparations d'ADN plasmidique. Trois souches dépourvues de pB1067 ont ainsi été obtenues.

Parallèlement, une série de mutants de SFn1 a été réalisée selon une stratégie de mutagenèse insertionnelle. Différentes régions du plasmide pB1067 (intra ou inter-géniques, Figure 16) ont été clonées dans un vecteur « suicide » contenant un gène de résistance à un antibiotique. Ce vecteur a ensuite été transféré par conjugaison à la souche sauvage SFn1. Les souches dans lesquelles le vecteur s'est intégré par recombinaison homologue peuvent être sélectionnées sur milieu contenant l'antibiotique. Dix-neuf mutants ont ainsi été générés.

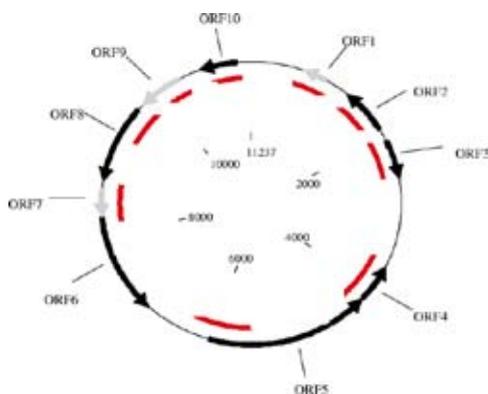


Figure 16 : Représentation schématique des régions du plasmide pB1067 interrompues par insertion du vecteur suicide pSW25T

Une série de plasmides pB1067 recombinants obtenus a été transférée par conjugaison à des souches MP, NP ou à la souche SFn1 préalablement curée du plasmide pB1067 original.

L'ensemble de ces mutants a été testé en infection expérimentale pour déterminer leur virulence chez la crevette. Ces infections ont été réalisées selon différentes voies d'infection : injection intramusculaire (IM) et balnéation.

Les différentes expérimentations réalisées ont établi que le curage du plasmide pB1067 se traduisait par une perte de sa virulence après infection expérimentale par balnéation et par IM, suggérant un rôle dans la virulence de la souche HP (souche VN110, Figure 17).

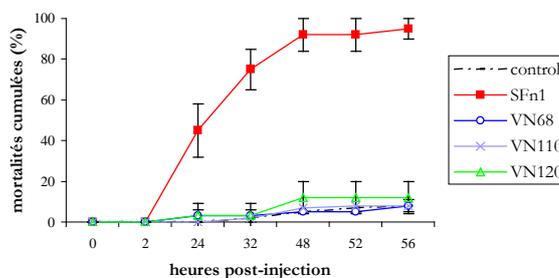


Figure 17 : Mortalités cumulées de crevettes *Litopenaeus stylirostris* infectées par balnéation par la souche HP SFn1, par des mutants portant une insertion d'un vecteur suicide au niveau d'une région spécifique du plasmide pB1067 (souches désignées VN68 et VN120), ou après infection par un mutant curé du plasmide pB1067 (souche VN110)

Le transfert de plasmides pB1067 recombinants dans des souches MP et NP n'a pas engendré de modification notable de leur phénotype, indiquant que ce réplicon, bien que nécessaire, n'est pas suffisant, à lui seul, pour induire le pathotype HP chez ces souches. Curieusement, la ré-introduction de ces plasmides recombinants dans la souche SFn1 préalablement curée de pB1067 (complémentation) n'a pas permis de restaurer le pathotype HP initial. Enfin, nous avons pu observer une perte de la virulence de la souche SFn1, quelque soit le site d'insertion du vecteur suicide dans pB1067 (intra ou inter-génique).

Tenant compte du fait qu'il était fortement improbable que toutes les délétions par insertion dans différentes régions du plasmide pB1067 se traduisent par une perte de la virulence, l'hypothèse a été émise qu'un événement se produit lors des étapes de manipulation génétique et aboutit à la perte irréversible du phénotype HP.

Identification d'un second plasmide, pA1066

Parallèlement à ce travail, et en collaboration avec le Génomoscope d'Evry (Appel d'offre 2007), nous séquençons le génome d'une souche HP de *V. nigripulchritudo* (souche SFn1). Les premiers résultats ont permis d'identifier, en plus de pB1067,

un second plasmide de plus grande taille (246 kpb), qui a été désigné pA1066 (Figure 18) (Le Roux et al., 2011b).



Figure 18 : Représentation schématique du plasmide pA1066. Les flèches représentent les différents gènes putatifs identifiés (Le Roux et al., 2011). Les marques notées de 1 à 10 correspondent aux zones amplifiées par PCR à des fins de génotypage

La présence de ce plasmide pA1066 a été recherchée parmi les mutants précédemment décrits à l'aide d'amorces nucléotidiques spécifiques. Ces analyses ont révélé une perte systématique de ce réplicon chez tous les construits générés par l'introduction du vecteur suicide. Toutefois, les mécanismes à l'origine de ce phénomène demeurent encore obscurs.

De nouvelles expérimentations visant à déterminer le rôle du grand plasmide pA1066, ont donc été entreprises. Elles ont permis la sélection d'un mutant de *V. nigripulchritudo* (désigné VN157), curé de pB1067 mais possédant toujours pA1066. Lors d'infections expérimentales de crevettes, ce mutant a induit des mortalités de l'ordre de 70% par IM, correspondant à un pathotype MP (Figure 19), mais n'a pas provoqué de mortalités significatives après infection

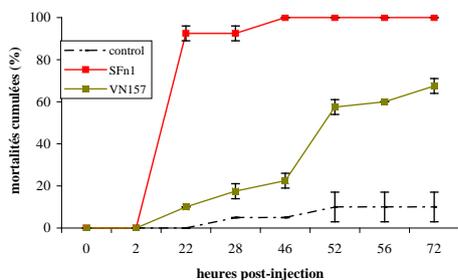


Figure 19 : Mortalités cumulées de crevettes *Litopenaeus stylirostris* infectées par IM par la souche sauvage SFn1 (possédant les 2 plasmides) ou par le mutant VN157, ne possédant que le plasmide pA1066 et dépourvu de pB1067

par balnéation.

Dans leur ensemble, les résultats obtenus indiquent que les deux plasmides pA1066 et pB1067 identifiés chez la souche SFn1 sont requis pour l'expression du pathotype « hautement pathogène ». Ils démontrent également que le plasmide pB1067 ne joue pas un rôle central dans la pathogénie de *V. nigripulchritudo*, contrairement à pA1066.

Une recherche systématique de la présence de ce grand plasmide a été réalisée sur une collection de 43 souches de *V. nigripulchritudo*, isolées à l'occasion d'épisodes de mortalités associées au syndrome d'été, et comprenant différents pathotypes. A cette fin, nous avons cherché à amplifier 10 régions

d'une taille de 2 kpb et réparties à intervalles réguliers sur ce réplicon. Les résultats de PCR ont établi que toutes les souches HP présentent un plasmide similaire à pA1066 (10 amplifications/10), tandis que les souches MP contiennent une forme différente de ce plasmide, les réactions de PCR ne permettant des amplifications de taille attendue que pour 8 couples/10.

Après avoir démontré l'implication de ces plasmides dans la virulence en conditions in vivo, nous avons entrepris d'étudier leur rôle dans la toxicité induite par l'injection de surnageants de culture. Les résultats obtenus ont indiqué que la production d'exotoxines était corrélée au pathotype des souches de *V. nigripulchritudo*, seules les souches HP présentant des surnageants toxiques après injection intramusculaire chez la crevette (Figure 20).

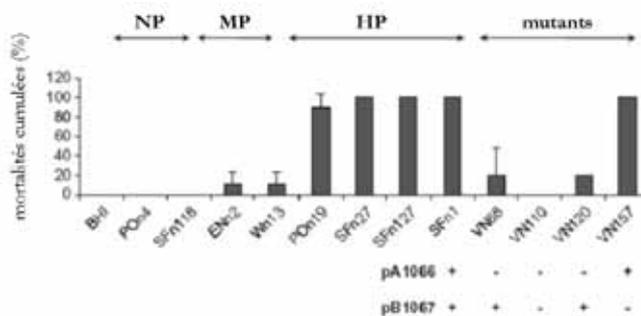


Figure 20 : Mortalités cumulées de crevettes après IM de surnageants de culture préparés à partir de souches HP, MP et NP de *V. nigripulchritudo* et de mutants de SFn1 avec ou sans plasmides

Compte-tenu du lien entre exotoxicité et pathotype, nous avons finalement cherché à déterminer l'implication des plasmides pA1066 et pB1067 dans la production d'exotoxines en utilisant les mutants précédemment décrits. Seuls les surnageants préparés à partir du mutant VN157 (possédant uniquement le plasmide pA1066) induisent un effet toxique comparable aux surnageants de la souche sauvage (Figure 20) (Le Roux et al., 2011b). Les mutants présentant uniquement le petit plasmide pB1067 n'ont pas généré de surnageants toxiques.

Ces résultats nous ont permis d'établir que le(s) facteur(s) à l'origine de l'exotoxicité est de nature protéique et que son support génétique est vraisemblablement porté par le plasmide pA1066.

2.2. Caractérisation des exotoxines de *Vibrio penaeicida*

Les exotoxines (facteurs protéiques extracellulaires toxiques) apparaissent jouer un rôle majeur dans la pathogénie de cette espèce de *Vibrio*. Leur caractérisation et identification ont été entreprises par une approche de biochimie.

Les conditions de culture favorisant l'expression de ce(s) facteur(s) ont été précisées. Deux paramètres ont été testés : la richesse du milieu et la température d'incubation des cultures. La toxicité des surnageants a ensuite été déterminée in vivo par infections expérimentales de crevettes. Deux conditions, une toxique (Zobell 5X, 22°C) et une autre peu toxique (TSB-NaCl, 28°C), ont pu être déterminées à cette occasion (Figure 21 A).

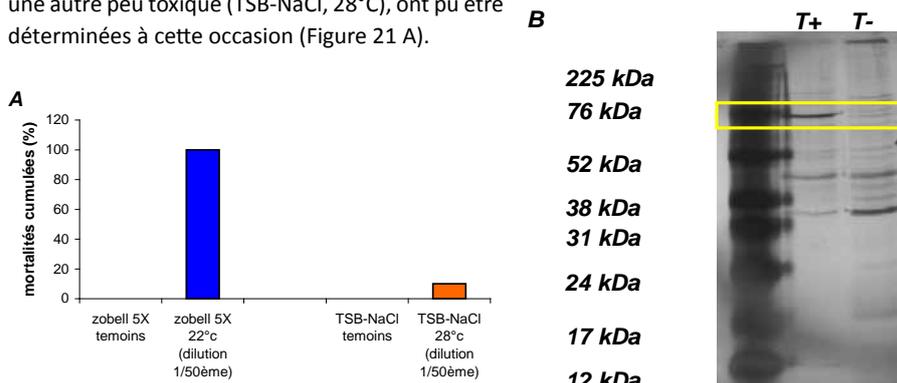


Figure 21 : A/ Mortalités cumulées de crevettes (n= 8-12) après injection de 100 µl de surnageants de la souche AM101 de *V. penaeicida* cultivée dans différentes conditions de milieu et température, B/ Gel SDS-PAGE coloré au nitrate d'argent présentant une protéine différemment exprimée en condition toxique (T+) et peu toxique (T-)

Une approche basée sur la recherche d'une différence de profil protéique, a alors été mise en place afin de caractériser la (les) protéine(s) toxique(s) impliquée(s). Les profils protéiques des surnageants issus de ces deux conditions (toxique et peu toxique) ont été analysés par électrophorèse SDS-PAGE, et les protéines apparaissant différemment ou majoritairement exprimées transférées sur membrane PVDF puis expédiées à la Plate-forme d'Analyse et de Microséquençage des Protéines de l'Institut Pasteur (Paris) pour un séquençage N-terminal. Cette approche a conduit à la mise en évidence d'une protéine d'un poids moléculaire apparent de 72 kDa, différentiel-

lement exprimée entre les deux conditions de culture (Figure 21 B). Son séquençage N-terminal a abouti à l'obtention d'une séquence analysable de 15 acides aminés (SLPSNPTP-VIPANLD). Des recherches par homologie de séquences dans des banques de données publiques ou privées (Génoscope) n'ont pas permis l'identification de cette protéine. Elles ont toutefois révélé l'existence d'une identité parfaite entre cette courte séquence et la séquence en acides aminés déduite d'un gène putatif de 2274 bp, localisé sur le plasmide pA1066 de *V. nigripulchritudo* au niveau de la région HP spécifique, et

codant une protéine de fonction inconnue.

Un homologue de ce gène a alors été recherché chez *V. penaeicida* par PCR à l'aide d'amorces nucléotidiques dégénérées, choisies à partir du fragment d'ADN déterminé chez *V. penaeicida* et de la séquence présente sur le plasmide pA1066 de *V. nigripulchritudo*. Les résultats de PCR ont, pour le moment, permis l'obtention d'un fragment de 693 bp, présentant 100 % d'identité avec la séquence portée sur le réplikon

pA1066 de *V. nigripulchritudo*.

Compte-tenu de ces résultats et de la démonstration du rôle du plasmide pA1066 dans la virulence de *V. nigripulchritudo*, nous avons, parallèlement à ce travail, entrepris de rechercher par PCR la présence potentielle de cet élément génétique mobile chez *V. penaeicida*, en utilisant les 10 couples d'amorces dessinées à partir de la séquence du plasmide pA1066 (cf. 2.1.). Les données obtenues ont révélé que 4 couples d'amorces sur 10 permettent l'amplification de fragments présentant une identité de 95 à 100 % avec les séquences correspondantes chez *V. nigripulchritudo*.

2.3. Conclusion et perspectives

L'approche de génomique fonctionnelle initiée chez *V. nigripulchritudo* a permis d'identifier un second plasmide de grande taille et d'établir son rôle central pour l'expression de la virulence dans différents modèles d'infection. Nos résultats démontrent également que le plasmide pB1067 contribue à la virulence car seules les souches possédant conjointement ces deux éléments génétiques mobiles induisent de forts taux de mortalités de crevettes (>80 %). Chez *V. penaeicida*, les données obtenues jusqu'à présent nous conduisent également à suspecter l'existence d'un élément génétique (mobile ou non), qui partagerait certaines régions du grand plasmide pA1066 de *V. nigripulchritudo*. Ce travail nécessite d'être poursuivi afin de rechercher par d'autres méthodes (comme l'électrophorèse en champs pulsés) la présence de ce réplikon chez cette

espèce. Il s'agira ensuite de déterminer son implication éventuelle dans la pathogénie en suivant la même démarche que celle développée pour *V. nigripulchritudo*.

Conjointement, ces approches contribuent à notre connaissance générale des mécanismes de pathogénie mis en jeu par les vibrios et répondent ainsi à un des objectifs de l'action 2 du programme DEDUCTION. Désormais, les travaux réalisés visent à identifier de façon plus précise les supports génétiques d'origine plasmidique à l'origine de la virulence. Outre leur intérêt fondamental, leur connaissance pourra permettre à terme d'étudier les facteurs de l'hôte et/ou de l'environnement qui les régulent. Le but de cette démarche est de définir quelles sont les conditions favorisant l'expression de

la virulence et qui correspondent donc à l'ouverture d'une « fenêtre de risque » pour l'éleveur. Chez *V. nigripulchritudo* par exemple, des travaux préliminaires indiquent que la température ne semble pas influencer sur la production d'exotoxines par les souches HP, contrairement à la richesse du milieu de culture (la production d'exotoxines étant favorisée en milieu riche).

Enfin, ces résultats offrent d'un point de vue pratique de nouvelles perspectives pour développer des outils de diagnostic,

comme nous allons le voir dans la troisième partie de ce document.

Les résultats présentés dans ce chapitre ont donné lieu en 2010 à une publication scientifique (Le Roux et al., 2011b). D'autre part, des travaux plus fondamentaux portant sur la description des mécanismes moléculaires régissant la réplication du plasmide pB1067 de *V. nigripulchritudo* ont été récemment publiés par F. Le Roux (Le Roux et al., 2011a).

3. Développement d'outils de diagnostic et application à des études de bassins de crevettes

3.1. Mise au point de techniques

Chez *V. nigripulchritudo*, différents pathotypes (MP, HP ou CNP) peuvent cohabiter parfois sur un même site d'élevage (Goarant et al., 2006a; Goarant et al., 2006b), soulignant la nécessité de disposer d'outils pertinents permettant de discriminer spécifiquement un pathotype donné. Pour répondre à cet objectif, des travaux ont été initiés par notre groupe dès Juillet 2007. Comme nous l'avons vu précédemment, les données issues de la thèse de Y. Reynaud ont permis de corréler la présence du plasmide pB1067 au pathotype HP (Reynaud et al., 2008). Initialement, les efforts ont donc porté sur la mise au point d'outils visant à détecter cet élément génétique de manière spécifique chez différentes souches de l'espèce *V. nigripulchritudo*.

Dans cette optique, la PCR (réaction de polymérisation en chaîne) est une méthode de choix, car elle permet d'amplifier artificiellement des quantités infimes d'un ADN cible pour qu'elles atteignent une concentration facilement décelable par le laboratoire. Par ailleurs, la séquence d'ADN amplifiée est fonction de celle des amorces utilisées lors de la PCR. Comme il est possible de choisir les séquences de ces amorces, il est donc possible de sélectionner de façon spécifique les séquences d'ADN à amplifier. Suivant cette approche, nous avons choisi des amorces oligonucléotidiques, désignées pSFn1-6020 (5' TGTCTTCTGGATCGCTTCGCC 3') et pSFn1-6974 (5' CGTCGTAAGGAGCGATAAGCC 3'), permettant d'amplifier un fragment de 954 pb de l'ADN du plasmide pB1067. La spécificité de ces amorces pour les souches de *V. nigripulchritudo* HP a été contrôlée au niveau intra (n=34) et interspécifique (n=11). Un fragment de taille attendue (954 bp) a été amplifié uniquement à partir des échantillons d'ADN extraits de souches HP, validant leur spécificité.

La sensibilité de la PCR dépend de la qualité et de la représentativité de l'échantillon reçu par le laboratoire. Or, il est établi que certains types d'échantillons, dont les sédiments, peuvent contenir des composés (comme les acides humiques)

qui inhibent l'enzyme catalysant la réaction de polymérisation en chaîne (Tsai and Olson, 1992). Les protocoles d'extraction d'ADN ont donc été optimisés afin de détecter par PCR, à l'aide du couple d'amorces pSFn1-6020/-6974, l'ADN du plasmide pB1067 à partir d'échantillons de sédiments. Les seuils de détection ont été estimés en conditions de laboratoire, sur des échantillons de sédiments bruts ou « enrichis ». Pour cela, les sédiments collectés sont préalablement cultivés en milieu liquide, permettant théoriquement la « revivification » des bactéries tout en favorisant la croissance sélective des *Vibrio* par rapport aux autres espèces bactériennes présentes dans l'échantillon.

Par les techniques de microbiologie classique, la détection de souches présomptives de l'espèce *V. nigripulchritudo* est basée sur l'observation d'une pigmentation noire des colonies bactériennes qui ne survient que lorsqu'elles sont cultivées sur milieu zobell supplémenté de glycérol. Cette identification est d'une part peu fiable, car elle repose sur un phénotype variable et parfois difficile à visualiser selon les conditions de culture, et elle présente d'autre part une limite de détection de 104 CFU g⁻¹ de sédiments humides (Tableau 2). En outre, elle ne permet pas la distinction entre les différents pathotypes.

Tableau 2 : Seuils de détection des techniques utilisées pour la détection de *Vibrio nigripulchritudo* au niveau de l'espèce ou du pathotype (HP) dans des échantillons environnementaux (eau de mer et sédiments) d'après (Walling et al., 2010).

Méthode de détection	Eau de mer	Sédiments (poids humide)	Sédiments enrichis (poids humide)
Microbiologie classique (milieu Zobell Glycérol)	100CFU / ml	10 ⁴ CFU / g	> 10 ⁴ CFU / g
PCR espèce <i>V. nigripulchritudo</i>	1 CFU / ml	10 ³ CFU / g	100 CFU / g
PCR <i>V. nigripulchritudo</i> pB1067		10 ⁶ CFU / g	100 CFU / g

Les différentes mises au point de protocoles d'extraction d'ADN et de conditions de PCR ont démontré qu'il était possible désormais d'abaisser de manière significative les seuils de détection de l'espèce *V. nigripulchritudo* dans l'eau de mer et les sédiments, comparativement aux techniques de culture

sur milieu artificiel (Tableau 2). D'autre part, l'intérêt principal de l'outil développé est de permettre désormais la caractérisation des isolats HP, même à partir d'échantillons environnementaux considérés comme difficiles à analyser.

3.2. Application pratique de ces outils : détection de *V. nigripulchritudo* dans les sédiments de bassins de crevettes

Des études réalisées dans le cadre du programme DESANS (Défi Santé Stylirostris 2002-2006) ont montré une augmentation de la prévalence de l'espèce *V. nigripulchritudo* dans l'eau des bassins d'élevage ainsi que dans l'eau des sédiments quelques jours avant la survenue des premiers phénomènes de mortalités estivales, amenant à l'hypothèse que les sédiments pourraient constituer un réservoir potentiel de l'espèce *V. nigripulchritudo* (Goarant et al., 2006a; Lemonnier et al., 2010), comme cela a été décrit chez quelques espèces de *Vibrio* pathogènes de poissons (Enger et al., 1989) ou de crevettes (De La Peña et al., 1992). Une première étude a eu donc pour objectif de décrire la dynamique bactérienne dans les sédiments d'un bassin de crevettes au cours d'un cycle d'élevage.

Pour cela, nous avons évalué la flore hétérotrophe totale (FHT) selon des techniques de microbiologie classique ainsi que les isolats appartenant à l'espèce *V. nigripulchritudo*, au niveau de l'espèce et du pathotype en utilisant la sonde PCR développée (Walling et al., 2010). Lors de cette étude, le bassin étudié (Station Aquacole de St Vincent, SASV2) représentait une superficie de 1520 m². Des échantillons de sédiments ont été prélevés en 42 points après 56 et 107 jours d'élevage, deux dates encadrant un épisode de mortalités dans ce bassin.

A l'issue de ce suivi, les résultats ont montré que les sédiments du bassin contenaient effectivement des bactéries de l'espèce *V. nigripulchritudo*, dont des souches appartenant au pathotype HP, avant la survenue d'un épisode de mortalités.

Ces données tendent ainsi à corroborer l'hypothèse que ce compartiment de l'environnement des bassins d'élevage pourrait constituer un des réservoirs possibles de cette espèce bactérienne, dans lequel elle pourrait survivre d'une année à l'autre, réapparaissant lors du cycle d'élevage suivant. Toutefois, peu d'informations sont disponibles concernant le comportement de *V. nigripulchritudo* dans les sédiments au cours d'un assec. Il s'agit de la période entre deux cycles d'élevage, au cours de laquelle les bassins sont entièrement vidés et laissés à l'air libre. En Nouvelle-Calédonie, l'assec présente une durée variable, les recommandations préconisant un mois entier.

Une seconde étude a donc été initiée pour déterminer la répartition spatio-temporelle des souches de *V. nigripulchritudo* dans les sédiments au cours d'une période d'assec. Le bassin étudié (bassin K de la Ferme Aquacole de la Ouenghi, FAO) est d'une superficie de 7,5 ha. Dans le cadre de ce travail, des échantillons de sédiments ont été prélevés toutes les 3 semaines à partir de la vidange du bassin en 15 points géo-

référencés, notés de A à O (Figure 22). Le nombre de points a été choisi de manière à optimiser la précision de la mesure en fonction de l'effort d'échantillonnage. Les points ont par ailleurs été placés de manière à couvrir l'ensemble du bassin, en réutilisant les points définis lors d'études précédentes (Lemonnier, 2007).

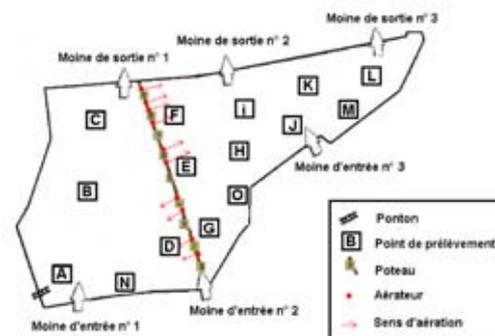


Figure 22 : teneur des sédiments en matière organique (%) et détection par PCR de *V. nigripulchritudo* dans les sédiments après 6 semaines d'assec. Un cercle rouge indique une détection positive de cette espèce bactérienne par PCR

Les résultats de ce suivi démontrent la persistance du vibron dans les sédiments du bassin, même après 15 semaines d'assec (Figure 23). L'analyse des données environnementales collectées lors des différents échantillonnages nous indiquent, par ailleurs, que cette persistance est corrélée, de façon significative, à la teneur en matière organique des sédiments et non pas à la teneur en eau.

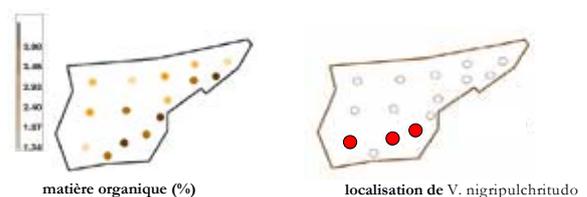


Figure 23 : teneur des sédiments en matière organique (%) et détection par PCR de *V. nigripulchritudo* dans les sédiments après 6 semaines d'assec. Un cercle rouge indique une détection positive de cette espèce bactérienne par PCR

3.3. Conclusion / Perspectives

Pour être utile à des fins de diagnostic, un système de détection doit être rapide, spécifique et pertinent. Les travaux présentés dans ce chapitre démontrent que l'outil développé répond à ces critères. La détection par PCR du plasmide pB1067 présente une sensibilité et une spécificité de détection supérieures aux techniques de microbiologie classique. Les outils de PCR disponibles (détection de *V. nigripulchritudo* au niveau de l'espèce ou du pathotype HP) nous ont d'ores et déjà permis de répondre à certaines questions concernant la répartition de cette espèce bactérienne dans l'environnement. Nous avons ainsi pu établir la persistance, entre deux cycles d'élevage, de *V. nigripulchritudo* dans les sédiments d'un bassin de crevettes et plus particulièrement dans les zones riches en matière organique. Ces premiers résultats tendent ainsi à démontrer les risques liés à la pratique d'assecs trop courts et à des sols insuffisamment ou peu travaillés, susceptibles de représenter une source de contamination bactériologique pour les élevages suivants. Une partie de ce travail a fait l'objet d'une publication scientifique (Walling et al., 2010).

Par ailleurs, avec la démonstration du rôle du plasmide pA1066 dans la virulence et la mise en évidence de l'existence d'un dimorphisme de ce réplicon entre les souches HP et MP (Le Roux et al., 2011b), il nous est possible aujourd'hui de compléter/d'améliorer les outils existants afin de permettre la distinction rapide de chaque pathotype selon la détection ou non des plasmides et de leur nature. Notre groupe développe actuellement un programme de PCR multiplex dans ce sens. Enfin, nous venons de répondre avec succès à l'appel d'offre Génoscope 2010 pour le séquençage complet de 14 souches de *V. nigripulchritudo*, incluant notamment des souches du clade 1, ainsi que des souches isolées de crevettes septicémiques à Madagascar (clade 2). Sur la base des analyses de ces génomes, nous comptons développer des outils permettant la détection spécifique de ces deux clades, dans la mesure où d'autres clusters de souches de *V. nigripulchritudo* pourraient être impliqués à l'avenir dans des épisodes de mortalité.

4. Recherche de souches à caractère probiotique pour les élevages larvaires de crevettes

La définition du terme « probiotique » diffère largement selon les auteurs. Il existe néanmoins un consensus sur la définition proposée par Fuller désignant un probiotique comme « un supplément alimentaire microbien vivant affectant de manière bénéfique l'hôte en améliorant son équilibre microbien » (Fuller, 1989). En aquaculture, l'utilisation de probiotiques est relativement récente, puisque les premiers travaux semblent remonter à 1986 (Kozasa, 1986). Il s'agit principalement de bactéries lactiques, appartenant aux genres *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* et *Streptococcus*, utilisées en élevage terrestre et transférées dans les systèmes aquacoles. Si ces isolats apparaissent bien adaptés aux conditions environnementales et à la physiologie des animaux terrestres, des questions se posent concernant leur tolérance (en termes de capacité de multiplication et de survie) aux conditions plus extrêmes de température et de salinité rencontrées dans l'environnement marin. Afin de pallier cette difficulté, nous avons donc entrepris de rechercher des souches à activité probiotique dans l'environnement des larves de crevettes. Par ailleurs, différentes études ayant démontré que les isolats bactériens produisant des substances inhibitrices vis à vis de la croissance d'autres bactéries (pathogènes ou non) s'avéraient fréquemment être des probiotiques intéressants en aquaculture (Irianto and Austin, 2002), nous avons développé une stratégie visant à rechercher la présence de telles souches dans l'environnement des bacs d'élevage larvaire.

de bacs d'élevage présentant de bons taux de survie. Cette démarche a permis l'isolement d'une trentaine de souches, dominantes et morphologiquement distinctes. Leurs activités antagonistes sur la croissance de différentes espèces de vibrions ont d'abord été déterminées en milieu solide, par des mesures des halos d'inhibition. Parmi toutes les souches analysées, seuls 3 isolats (désignés SASV1, SASV2 et J2-5) ont démontré des propriétés antibactériennes vis à vis des différentes espèces de *Vibrio*, hormis *V. alginolyticus*. (Figure 24). Par la suite, des essais d'exclusion compétitive entre le candidat probiotique (SASV1, SASV2 ou J2-5) et un vibron ont été réalisés en milieu liquide. Afin de pouvoir mesurer l'effet de la souche candidate sur la croissance du vibron testé, nous avons eu recours à deux espèces, *V. nigripulchritudo* et *V. harveyi*, génétiquement modifiées pour qu'elles expriment une protéine fluorescente (Green Fluorescent Protein) (Coll. M. Koken, Institut Universitaire & Européen de la Mer). Les 3 candidats probiotiques ont inhibé de façon significative la croissance de *V. harveyi* en conditions *in vitro* (Figure 25). Des résultats similaires ont été observés avec *V. nigripulchritudo*.

Des isollements bactériens ont été effectués dans trois écloseries de Nouvelle-Calédonie, à partir d'échantillons d'eau

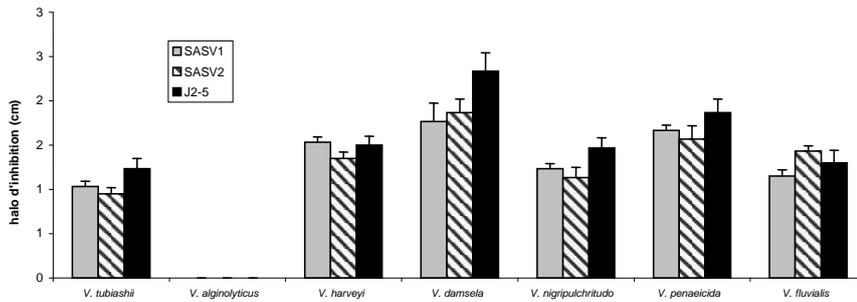


Figure 24 : activités antagonistes de 3 isolats (SASV1, SASV2 et J2-5) vis à vis de différentes espèces de *Vibrio*. Ces activités sont mesurées en termes de halos d'inhibition (en cm)

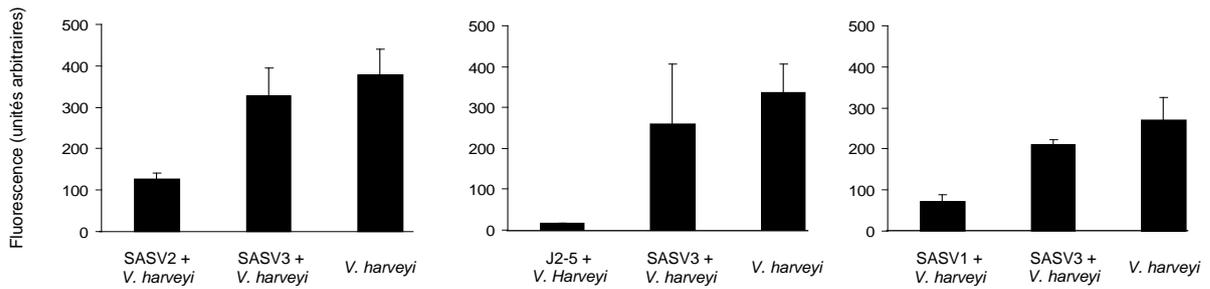
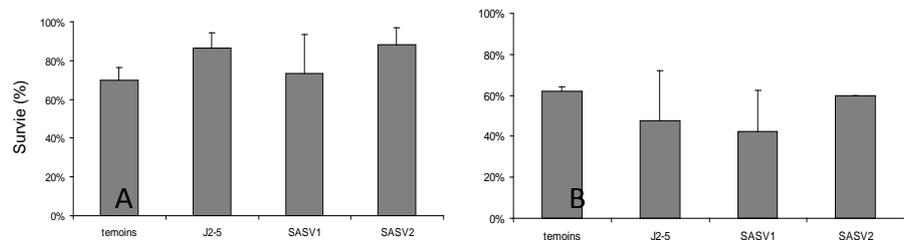


Figure 25 : activités inhibitrices de 3 isolats (SASV1, SASV2 et J2-5) ou d'une souche « témoin » (SASV3) sur la croissance en milieu liquide de *V. harveyi* GFP. La fluorescence indiquée en ordonnée est proportionnelle au nombre de cellules de *V. harveyi* GFP

Enfin, l'effet de ces 3 isolats sur la survie des crevettes a été testé en conditions *in vivo* lors d'essais de balnéation en présence de larves au stade mysis, de postlarves (PL11) ainsi qu'en présence d'animaux adultes. A cette occasion nous avons pu démontrer que ces 3 candidats ne présentaient pas de caractère pathogène chez la crevette (Figure 26).

L'identification de ces trois candidats probiotiques a finalement été réalisée après amplification par PCR de l'ADN ribosomal 16S. Les analyses des séquences obtenues nous ont permis d'affilier l'isolat SASV1 à l'espèce *V. neptunius*, l'isolat SASV2 à l'espèce *Pseudoalteromonas rutherfordiana* et l'isolat J2-5 à l'espèce *V. coralliilyticus*.

Figure 26 : Pourcentages de survie de larves de crevettes *L. stylirostris* après balnéation en présence de trois souches probiotiques A : larves au stade mysis, B : postlarves (PL11)



Les données de cette étude démontrent les capacités inhibitrices de trois souches candidates sur la croissance des vibrios et leur innocuité chez la crevette, ce qui constitue un pré-requis pour la poursuite des tests. Parmi ces candidats, deux appartiennent au genre *Vibrio* et un au genre *Pseudoalteromonas*, un genre bactérien dont de nombreux membres présentent des activités inhibitrices vis à vis d'un large spectre de bactéries marines (Holmström et al., 2002). Ce travail, entamé dans le cadre du projet DEDUCTION, donne donc pour le moment des résultats encourageants, qui nécessitent d'être poursuivis en conditions *in vivo* afin de déterminer la capa-

cité de ces probiotiques à conférer aux animaux une meilleure résistance aux infections bactériennes, à travers la réalisation de challenges expérimentaux.

Par ailleurs, les modalités d'action des bactéries probiotiques sont diverses (amélioration de l'assimilation de la nourriture, production d'enzymes digestives, stimulation des paramètres immunitaires, etc), il pourrait être intéressant à plus long terme de conduire des études de physiologie afin de déterminer l'impact de ces candidats sur la crevette elle-même.

5. Références bibliographiques

- Bachère, E. 2000. Shrimp immunity and disease control. *Aquaculture*, 191, 3-11.
- De La Peña, L.D., Momoyama, K., Nakai, T., and Muroga, K. 1992. Detection of the causative agent of vibriosis in kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. *Fish Pathol. - Gyobyo Kenkyu*, 244, 223-228.
- Fuller, R. 1989. Probiotic in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, 66, 365-78.
- Goarant, C., Merien, F., Berthe, F., Mermoud, I., and Perolat, P. 1999. Arbitrarily primed pcr to type vibrio spp. pathogenic for shrimp. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 1145-1151.
- Goarant, C., Herlin, J., Brizard, R., Marteau, A.L., Martin, C., and Martin, B. 2000. Toxic factors of vibrio strains pathogenic to shrimp. *Dis. Aquat. Organ.*, 40, 101-107.
- Goarant, C., Ansquer, D., Herlin, J., Domalain, D., Imbert, F., and de Decker, S. 2006a. "Summer syndrome" In *Litopenaeus stylirostris* in new caledonia: Pathology and epidemiology of the etiological agent. *Aquaculture*, 253, 105-113.
- Goarant, C., Reynaud, Y., Ansquer, D., de Decker, S., Saulnier, D., and le Roux, F. 2006b. Molecular epidemiology of *Vibrio nigripulchritudo*, a pathogen of cultured penaeid shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) in New Caledonia. *Syst. Appl. Microbiol.*, 29, 570-80.
- Holmström, C., Egan, S., Franks, A., McCloy, S., and Kjelleberg, S. 2002. Antifouling activities expressed by marine surface associated pseudoalteromonas species. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 41, 47-58.
- Irianto, A., and Austin, B. 2002. Probiotics in aquaculture. *J. Fish Dis.*, 25, 633-642.
- Karunasagar, I., Pai, R., Malathi, G.R., and Karunasagar, I. 1994. Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic-resistant *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture*, 128, 203-209.
- Kozasa, M. 1986. Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promoter for animal feeding. *Microbiol. Aliment. Nutr.*, 4, 121-135.
- Le Roux, F., Davis, B.M., and Waldor, M.K. 2011a. Conserved small rnas govern replication and incompatibility of a diverse new plasmid family from marine bacteria. *Nucleic Acids Res.*, 39, 1004-1013.
- Le Roux, F., Labreuche, Y., Davis, B.M., Iqbal, N., Mangenot, S., Goarant, C., Mazel, D., and Waldor, M.K. 2011b. Virulence of an emerging pathogenic lineage of *Vibrio nigripulchritudo* is dependent on two plasmids. *Environ. Microbiol.* 13, 296-306.
- Lemonnier, H., Courties, C., Mugnier, C., Torrétion, J-P., Herbland, A. 2010. Nutrient and microbial dynamics in eutrophying shrimp ponds affected or unaffected by vibriosis. *Marine Pollution Bulletin* 60, 402-411.
- Reynaud, Y., Saulnier, D., Mazel, D., Goarant, C., and Le Roux, F. 2008. Correlation between detection of a plasmid and high-level virulence of *Vibrio nigripulchritudo*, a pathogen of the shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74, 3038-3047.
- Sakai, T., Hirae, T., Yuasa, K., Kamaishi, T., Matsuyama, T., Miwa, S., Oseko, N., and Iida, T. 2007. Mass mortality of cultured kuruma prawn *Penaeus japonicus* caused by *Vibrio nigripulchritudo*. *Fish Pathology*, 42, 141-7.
- Sommerset, I., Krossoy, B., Biering, E., and Frost, P. 2005. Vaccines for fish in aquaculture. *Expert Review of Vaccines*, 4, 89-101.
- Tsai, Y.L., and Olson, B.H. 1992. Detection of low numbers of bacterial cells in soils and sediments by polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 754-757.
- Walling, E., Vourey, E., Ansquer, D., Beliaeff, B., and Goarant, C. 2010. *Vibrio nigripulchritudo* monitoring and strain dynamics in shrimp pond sediments. *J. Appl. Microbiol.*, 108, 2003-2011.



Écophysiologie

1. Physiologie larvaire et post-larvaire

1.1. Contexte

La production de post-larves (PL), bien que maîtrisée sur un plan zootechnique, subit des aléas qui peuvent mettre en péril la filière. Au cours de ces dernières années, les écloséries (phases d'élevage larvaire et nurserie) ont en effet essuyé des épisodes de mortalités importantes dont les causes n'ont pas été clairement identifiées. En 2006, le problème s'est aggravé et a conduit nombre de fermes à décaler leur production, ainsi prolongée jusqu'en saison froide, augmentant d'autant les risques d'exposer les élevages au syndrome 93 (voir DESANS). Outre le problème des mortalités en éclosérie, la qualité des post-larves ainsi produites peuvent impacter de façon sensible les résultats en grossissement. La qualité des PL en terme de déformation, de sensibilité aux stress et autres défauts peut en effet compromettre la suite de la production. Il existe donc un véritable besoin de stabiliser la production des écloséries et de normaliser la qualité des PL.

Dans ce contexte, un programme de recherche a donc été mené afin d'améliorer nos connaissances sur la physiologie des larves et post-larves en relation avec leur environnement et permettre entre autre de déterminer les phases critiques du développement larvaire pouvant conduire à des adaptations du protocole actuel d'élevage. Les principales questions abordées étaient les suivantes :

- Détermination des besoins énergétiques au cours de l'ontogénèse. Les connaissances extrêmement limitées dans ce domaine nous empêchent d'améliorer les

régimes alimentaires appliqués en élevage larvaire et en nurserie. L'étude du rationnement en proies vivantes (*Artemia*), a ainsi été réalisée afin de cerner au mieux les besoins alimentaires de l'animal mais également d'optimiser les conditions sanitaires des élevages. Les *Artemia* constituent en effet un maillon critique des élevages larvaires et des nurseries du fait de leur disponibilité, leur coût, leur qualité et stabilité nutritionnelles et la contamination microbienne associée au cours de l'élevage.

- Mise en place des défenses anti-radicalaires et du stress oxydatif au cours du développement larvaire. Le statut pro-antioxydant est un indicateur de confort physiologique d'un animal. Au travers de la mesure de différentes activités enzymatiques et de l'oxydation de composé organique (protéines et lipides), ces éléments sont révélateurs de l'état de santé d'un individu. Le statut pro-antioxydant a été ainsi évalué afin de déterminer les stades de plus grande sensibilité.
- Ontogénèse de l'osmorégulation et de la respiration. Ces mécanismes physiologiques et leurs adaptations ont été étudiés au cours du développement. La salinité et l'oxygène ne sont pas considérés comme des facteurs limitant en élevage larvaire, comme l'est la température. Cependant la mise en place d'organes spécifiques au cours du développement de l'animal influe grandement sur les fonctions d'osmorégulation et de respiration.

1.2. Besoins énergétiques des larves

Les artémies sont indispensables dans l'alimentation larvaire des pénéides : les proies vivantes représentent encore 50% de la ration distribuée dans les protocoles d'élevage larvaires de *L. stylirostris*. Les essais de substitution totale par des aliments inertes ont jusqu'à présent été infructueux. Ainsi l'évaluation de la croissance en fonction de la ration d'artémies distribuée a été réalisée pour les différents stades larvaires afin de déterminer les besoins énergétiques et nutritionnels de l'animal et donc optimiser l'apport de proies vivantes.

Photo 4 : Installation expérimentale pour l'évaluation de la croissance des larves en fonction de la ration d'artémies distribuée. Volume 1 L.



Cette étude a nécessité au préalable la mise au point et l'adaptation de différentes méthodes à l'étude des larves dont l'élevage expérimental en petits volumes (Photo 4). Les expérimentations ont été réalisées en volume inférieur à 1 litre afin de maîtriser les quantités d'artémies distribuées et déterminer de façon précise les survies et le gain de poids (au bout de 48 h).

Ces études ont permis de montrer qu'entre les stades Mysis 2 et PL de 1 jour (PL1) (Figure 27A), les rations inférieures à 20 artémies/larve affectent négativement la survie et la croissance et que la dose optimale était comprise entre 30-40 artémies. Pour les stades post-larvaires, la quantité d'artémies nécessaire pour atteindre le maximum de croissance est 3-4 fois supérieure (130-150 artémies/animal, Figure 27B). Alors que l'ingestion des artémies augmente avec la disponibilité des proies vivantes, les rations insuffisantes ou le sur-nourrissage, affectent la croissance et/ou la survie (Figure 28).

Le protocole de nourrissage appliqué au LEAD a ainsi été ajusté :

- Les rations distribuées dans les premières phases larvaires (zoé3-Mysis3) ont été réduites de moitié permettant en outre de diminuer l'impact bactériologique relatif à l'utilisation des artémies, sachant qu'aucun renouvellement du milieu d'élevage n'est effectué pendant cette période.
- Par contre les besoins alimentaires

des stades post-larvaires, déterminés par cette méthode, sont plus importants au regard des rations préconisées. Cependant, comme rappelé précédemment, l'aliment artificiel est déjà utilisé en complément des proies vivantes dans les écloseries commerciales. Afin de maintenir une densité optimale en proies vivantes dans le milieu d'élevage (130-150 artémies/Pl) un suivi précis de la consommation en artémies est indispensable (estimation de la densité résiduelle dans le milieu avant chaque distribution).

Le passage de l'échelle expérimentale à l'échelle pilote a été rendu difficile par l'imprécision des comptages dans les volumes plus importants (100 litres). Des ajustements techniques (prélèvements volumétriques pour estimer la consommation d'artémies, détermination de l'augmentation métabolique consécutive à l'alimentation) sont nécessaires pour permettre la poursuite cette étude afin de déterminer finement les besoins énergétiques et les traduire en équivalents aliments artificiels.

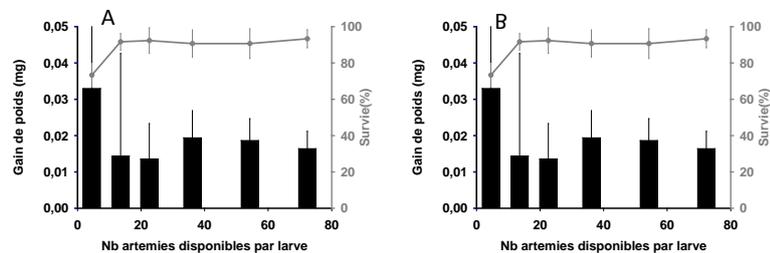


Figure 27 : Croissance et survie des Mysis-PL1 (A) et PL6-8 (B) de *L. stylirostris* en fonction de la quantité d'artémies distribuées

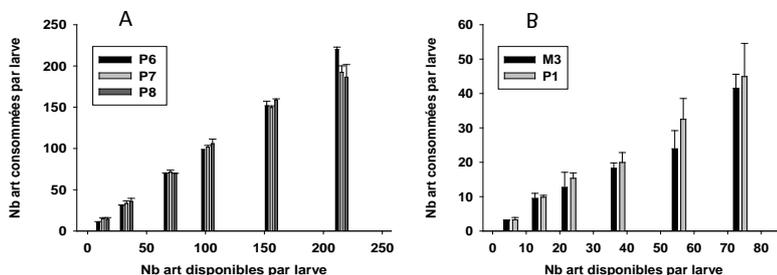


Figure 28 : Consommation d'artémies associée à Mysis-PL1(A) et PL6-8 (B) en fonction de la quantité d'artémies disponibles

1.3. Mise en place des défenses antioxydantes et du stress oxydatif chez les larves et PL

Le statut pro-antioxydant est un indicateur de confort physiologique d'un animal adapté ces dernières années à l'étude de *L. stylirostris* au sein du laboratoire du LEAD NC. Le stress oxydant (SO) est mesuré de manière indirecte en dosant d'une part des défenses antioxydantes et d'autre part des dommages conséquences des attaques radicalaires. Les bioindicateurs dosés sont pour (i) les défenses antioxydantes : les enzymes superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathionperoxydase (Gpx), les glutathions totaux et oxydés, et la TAS (Total Antioxidant Status) et (ii) pour les dégâts oxydatifs : le malondialdéhyde (MDA) et les carbonyles des protéines. Cependant, l'utilisation de ces paramètres au cours du développement larvaire a nécessité des mises au point préalable afin de déterminer :

- la taille de l'échantillon : une analyse individuelle est impossible à ce niveau et chaque prélèvement nécessite le sacrifice de plusieurs centaines à plusieurs milliers de larves ;
- l'évolution des stades : dans les premiers jours de sa vie, la crevette passe par pas moins de 7 stades différents (sans considérer les différents stades Nauplius) et complique donc le suivi de tous les paramètres biochimiques ;
- l'influence des parents fondateurs : le Nauplius vit sur ses réserves vitellines générées au sein de la femelle reproductrice.

Ainsi les niveaux de défenses anti-oxydantes aux différents stades larvaires (Nii, Z2, M2, PL1, PL5, PL10) et la relation

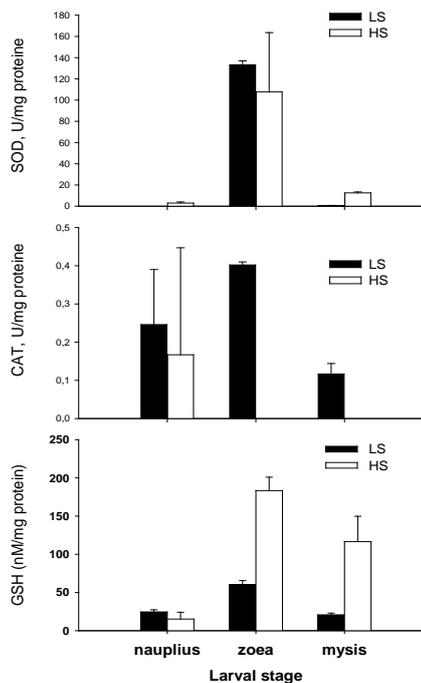


Figure 29 : Evolution de la SOD, la CAT et les Glutathions chez les jeunes stades larvaires selon la survie à 8 jours d'élevage (LS, 10% survie ; HS 64%)

entre le niveau du statut anti-oxydant de la larve et la survie larvaire dans les premiers jours d'élevage ont été évalués afin de déterminer les critères les plus sélectifs. Cet axe a donc été abordé à deux niveaux : (i) le laboratoire où sont menées des expérimentations en petit et moyen volumes et (ii) les écloseries commerciales pour la comparaison des élevages.

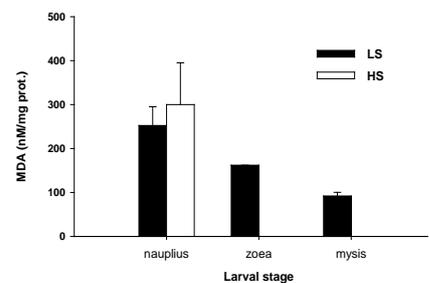
Les premières évaluations du statut antioxydant au cours du développement larvaire montrent que les défenses antioxydantes ne sont pas toutes présentes dans l'œuf et qu'elles se mettent en place au cours du développement larvaire. D'un point de vue du statut antioxydant, le stade Nauplius est caractérisé par une quasi-absence d'activité SOD et un faible niveau de glutathion peroxydase (Figure 29). Les niveaux les plus élevés d'enzymes antioxydantes ont été mesurés au stade Zoé.

1.4. Mise en place des structures de l'osmorégulation et de la respiration au cours de l'ontogenèse

L'objectif est de déterminer l'influence de paramètres environnementaux sur la survie et la croissance des larves. Le premier paramètre étudié est la salinité. Les pénéides tels que la crevette bleue *Litopenaeus stylirostris* sont considérées comme des animaux euryhalins et leur résistance aux variations de la salinité est relativement importante à l'âge adulte. Cependant, leur tolérance aux chocs salins durant les phases larvaires est encore méconnue alors que ce paramètre d'élevage peut fluctuer tout au long de l'année.

Ce travail de recherche a été mené dans le cadre de la thèse de doctorat de Dominique Pham et plusieurs étapes ont été considérées dans cette approche :

Figure 30 : Evolution des MDA chez les jeunes stades larvaires selon la survie à 8 jours d'élevage à (LS, 10% survie ; HS 64%)



Parmi les dégâts oxydatifs, le niveau de peroxydation des lipides est plus important chez les stades Nauplius et Zoé (Figure 30). Le niveau de protéines carbonyl est quant à lui très augmenté au stade Zoé. Ceci peut s'expliquer par le changement profond du régime alimentaire et des réserves lipidiques lorsque le Nauplius se transforme en Zoé. En effet, les premiers stades larvaires (Nauplii) obtiennent la majeure partie de leur énergie du catabolisme des lipoprotéines contenues dans les réserves vitellines, particulièrement riche en acide gras poly-insaturés. Par ailleurs leurs défenses antioxydantes dépendent en partie de celles fournies par la mère via le vitellus.

La comparaison des profils de défenses anti-oxydantes des larves issus d'élevages significativement différents en terme de survie met en évidence une différence de voie de détoxification. En effet, chez les Zoé prélevées dans les élevages à très faibles survies (LS = 10%), l'activité élevée de la SOD entraîne probablement l'accumulation de peroxyde d'hydrogène induisant une augmentation de l'activité de la catalase. L'absence d'activité CAT, chez les Zoé issues d'élevages à bonnes survies (HS = 64%), suggère que la voie d'élimination des ERO est celle des glutathions.

Les résultats obtenus dans cet axe sont encourageants mais encore insuffisants du fait des difficultés de production d'écloserie (mauvaise survie, portage élevé en IHHNV). Des expérimentations complémentaires ont donc été menées à partir des productions réalisées à Saint-Vincent via des géniteurs screenés sur leur portage en IHHNV. Les profils (en cours d'analyse) seront comparés pour les animaux issus de bons et mauvais élevages (taux de survie à PL10) afin de déterminer les critères les plus sélectifs.

- la tolérance aux chocs de salinité et la capacité osmorégulatrice : Les larves sont transférées directement de l'eau de mer (35 ppt) dans de l'eau à différentes salinités (0 à 45 ppt). La survie est évaluée au bout de 6 h et l'évolution de la pression osmotique dans l'hémolymphe est déterminée en fonction de la salinité du milieu d'élevage.
- la mise en place des organes osmorégulateurs et leur implication dans l'osmorégulation durant l'ontogenèse : les colorations histologiques et l'immunolocalisation de la Na⁺K⁺ ATPase (NKA) sont utilisées pour déterminer la chronologie d'apparition et de participation des tissus à la régulation ionique.

- la quantification des ARNm de la NKA dans les organes osmorégulateurs.

Tolérance aux chocs de salinité et la capacité osmorégulatrice

Les stades les plus sensibles aux chocs salins sont les Mysis et PL1, stades entourant la métamorphose. Un passage rapide des animaux de 35 ppt à 25 ppt entraîne 50 % de mortalité chez Mysis après 6 heures (Figure 31). En comparaison, le premier stade larvaire nauplius supporte une baisse jusqu'à 18 ppt sans que cela n'affecte la survie des animaux pendant 6h.

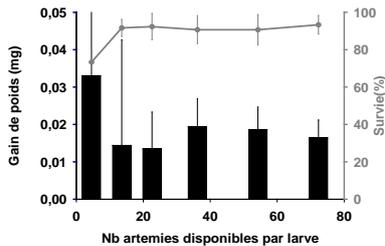


Figure 31 : Salinité provoquant au moins 50 % de mortalité 6 heures après le choc osmotique

Après la métamorphose, la résistance aux chocs salins augmente progressivement et des post-larves âgées de 8 jours (PL3-PL4) qui supportent un changement brusque de 35 ppt à 20 ppt pendant 24 h. Lorsque *L. stylirostris* a atteint sa formule rostrale définitive (PL8/9), elle peut supporter pendant 24 h une immersion à 3 ppt mais une immersion dans de l'eau douce entraîne une mortalité totale après 3 h.

Concernant la capacité osmorégulatrice, les zoés et Mysis hyper-osmorégulent à toutes les salinités testées (entre 650 et 1358 mOsm.kg⁻¹, soit entre 22 et 45 ppt ; Figure 32) : la pression osmotique de l'hémolymphe est toujours légèrement au-dessus de celle du milieu extérieur.

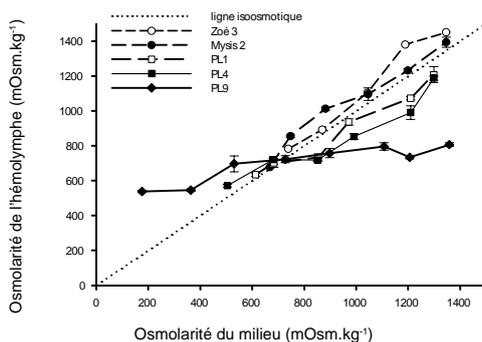


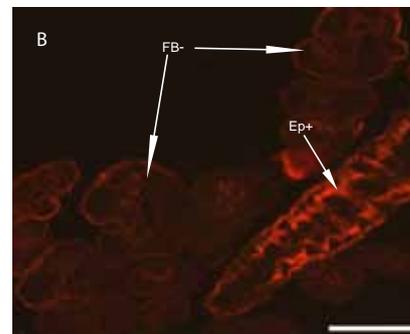
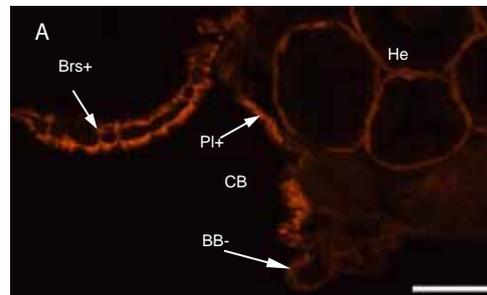
Figure 32 : Pression osmotique de l'hémolymphe chez différents stades larvaires et post-larvaires de *L. stylirostris* en fonction de la pression osmotique du milieu

Mais après la métamorphose, un changement progressif de la capacité osmorégulatrice permet à l'animal d'hyporéguler lorsque la salinité du milieu est supérieure à 700 mOsm.kg⁻¹ ; une fois atteint le stade post-larvaire PL8/9, la pression osmotique de son milieu intérieur ne varie plus qu'entre 538 et 807 mOsm.kg⁻¹ alors que le milieu extérieur varie de 176 et 1358 mOsm.kg⁻¹ (6 ppt et 45 ppt). La capacité osmorégulatrice est alors similaire à celle des adultes et le point iso-osmotique à ce

stade post-larvaire est de 720 mOsm.kg⁻¹(24.5 ppt).

Mise en place des organes osmorégulateurs et leur implication dans l'osmorégulation durant l'ontogenèse

La pleure et le branchiostégite sont présents dès zoé mais seule la pleure réagit positivement au marquage immunofluorescent. A partir de mysis 2, les premiers signes d'immunoréactivité sont visibles dans le branchiostégite (photo 5A) mais c'est réellement à PL1 que se manifeste l'activité enzymatique dans cet organe. Les premières structures d'épipodites et de branchies sont visibles autour de la métamorphose (Mysis 3 et PL1) mais l'immunolocalisation est positive uniquement dans les épipodites et jamais dans les branchies (photo 5B). Ces observations sont confirmées par l'examen de l'ultra-structure des organes de la cavité branchiale. Les ionocytes (cellules spécialisées dans l'osmorégulation) sont absentes des branchies alors qu'elles sont présentes dans les branchiostégites et les épipodites.



Photos 5 : Immunolocalisation des sites de la NaKAT-Pase sur une coupe transversale de la cavité branchiale (CB) d'un Mysis 2 (A) et d'une PL9 (B) de *L. stylirostris*.
 FB : Filaments branchiaux ;
 PL : Pleure ;
 Brs : Branchiostégite ;
 BB : Bourgeons branchiaux ;
 Ep : Epipodite ;
 He : Hépatopancréas.
 + : présence de la NaKATPase
 - : absence de la NaKATPase

La quantification des transcrits de la Na-K ATPase dans les organes osmorégulateurs

Les analyses d'expression de ce gène par PCR en temps réel sur différents tissus de crevettes adultes indiquent qu'il est exprimé de façon ubiquitaire. Toutefois, les quantités relatives de transcrits Na+K+ ATPase apparaissent 3 à 4 fois supérieures dans les organes supposés intervenir dans l'osmorégulation

(branchies et épipodites) comparativement à celles mesurées dans le muscle adducteur (Figure 33).

Effet de la salinité sur la survie et la croissance des larves et post-larves en élevage

L'ajustement des différents paramètres d'élevage au préférendum de la crevette bleue *L. stylirostris* permet de limiter le stress de l'animal et donc ses dépenses énergétiques, qui seront alors mobilisées pour sa croissance.

Les élevages menés à une salinité inférieure à 30 ppt subissent une mortalité totale entre 3 à 9 jours alors que dans les conditions standard (35 ppt) la survie est de 80% (Figure 34). A partir du stade PL1, une descente progressive de la salinité à 30, 27 ou 24 ppt n'a pas d'influence significative sur la mortalité et croissance comparativement aux élevages maintenus à la salinité de 35 ppt jusqu'à J20. Par contre, lors de la nurserie une dessalure du milieu proche du point iso-osmotique (27 ppt) améliore considérablement la croissance des post-larves (Figure 35).

En terme d'application zootechnique, il est donc recommandé de maintenir une salinité de 35 ppt pour les stades larvaires et de descendre progressivement la salinité à 27 ppt après la métamorphose.

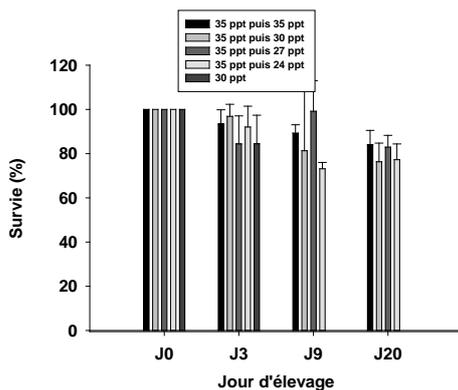


Figure 34 : Evolution de la survie des larves de *L. stylirostris* en fonction de la salinité d'élevage

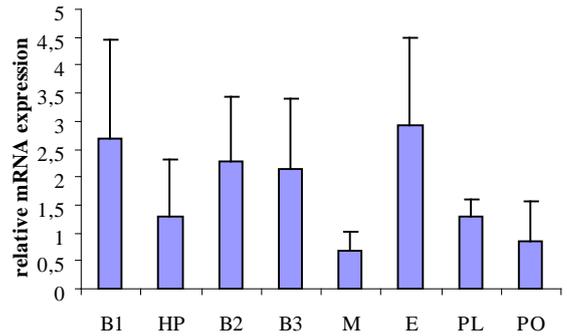


Figure 33 : Niveaux de transcrits de Na+K+ ATPase relatifs aux transcrits du gène facteur d'élongation I dans les différents organes chez la crevette adulte *L. stylirostris* (n=5) élevée à 35 ppt.

B1 : Branchie 1 ;
 HP : Hépatopancréas ;
 B2 : Branchie 2 ;
 B3 : Branchie 3 ;
 M : Muscle ;
 E : Epipodite ;
 PL : Pléiopode ;
 PO : Pédoncule Oculaire

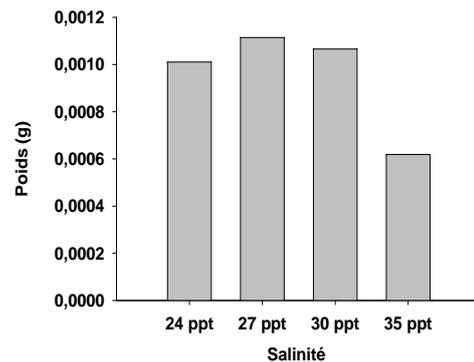


Figure 35 : Poids moyen d'une P20 de *L. stylirostris* en fonction de la salinité d'élevage

1.5. Perspectives

Les prochains travaux envisagés consisteront à :

- Étudier l'implication d'autres systèmes de régulation dans les échanges ioniques (CFTR par exemple) ;
- Déterminer l'influence de la salinité sur l'expression des gènes des principales enzymes liées à l'osmorégulation : la Na+K+ ATPase, anhydrase carbonique et la VATPase ;

- Démontrer la fonctionnalité de ces systèmes en utilisant la technique de l'ARN interférence ;
- Déterminer le coût énergétique de l'osmorégulation (mesure de métabolisme).

2. Métabolisme oxydatif et allocation énergétique de deux types génétiques de la crevette *Litopenaeus stylirostris*

Suite à l'introduction de la souche Shawaïenne de *L. stylirostris*, (cf. résultats génétique), il est apparu intéressant, en concordance avec les conclusions de l'évaluation du programme DéSanS, d'étudier les besoins énergétiques des différents types génétiques de la crevette bleue. Le but étant d'acquérir les bases physiologiques susceptibles d'expliquer les différences de croissance et de résistance aux vibrioses des différents types et le cas échéant de fournir des critères supplémentaires pour la poursuite de la sélection. L'objet de cette fiche était de caractériser

les besoins énergétiques des animaux par 2 approches : (i) des études de laboratoire en chambre à métabolisme pour la mesure des métabolismes standard et postprandial et (ii) des études en bacs, avec un suivi individuel des crevettes préalablement marquées, de la fonction croissance-ration (CR). Les mesures de consommation d'oxygène ont montré que les crevettes calédoniennes et hybrides ont un niveau métabolique au repos, à 20°C, équivalent (respectivement 97,2 et 101,6 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{kg}$, Figure 36) mais légèrement supérieur à ce qui avait été déterminé lors des précédentes études réalisées dans des conditions identiques (85,2 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{kg}$). D'autre part, alors que la quantité d'aliment ingérée par les animaux des deux types génétiques était équivalente (0,14 \pm 0,02 g), on observe une réduction de la durée du pic post-prandial (6 h au lieu de 12h) chez les animaux calédoniens. Ainsi la quantité d'oxygène consommée pour la digestion est pratiquement diminuée de moitié ce qui pourrait traduire un dérangement des fonctions de nutrition de la crevette calédonienne (dont la cause reste inconnue). Le pic post-prandial des crevettes hybrides mesuré au cours de ces expérimentations présente

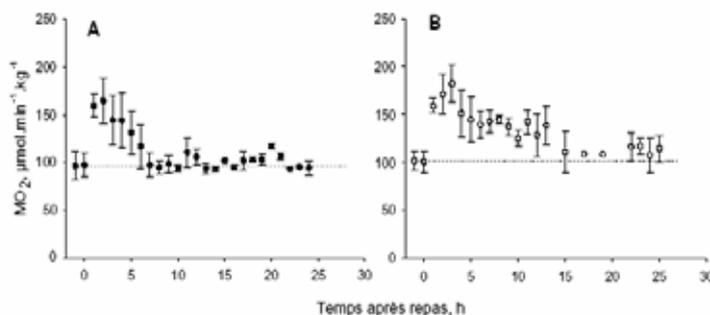


Figure 36: Evolution de la consommation d'O₂ suite à une prise alimentaire équivalente (0,14 \pm 0,02 g) des crevettes calédoniennes (A) et hybrides (B)

des caractéristiques d'amplitude et de durée similaire à celles qui avaient été mesurées précédemment avec la souche calédonienne à la même température.

Les séries d'expérimentation Croissance-Ration (2007-2008) ont mis en évidence pour le type hybride des croissances et des consommations d'aliments supérieures au type calédonien. Cependant les croissances obtenues ont été exceptionnellement basses, notamment celle des calédoniennes qui fut quasi-nulle comparée aux données précédemment mesurées (2004) dans des conditions équivalentes (Figure 37). Les performances du type hybride ont même été inférieures dans une eau réchauffée à 24°C (Figure 38). L'ensemble des expérimentations (respirométrie et CR) semble indiquer que l'aliment ingéré par le type calédonien était très faiblement transformé en croissance et couvrait principalement les besoins des fonctions vitales de l'animal (métabolisme, excrétion, mue). Ce blocage de croissance a été associé à un niveau très élevé de portage du virus IHNN. Les difficultés expérimentales dont la disponibilité en matériel naïf n'ont pas permis de conclure.

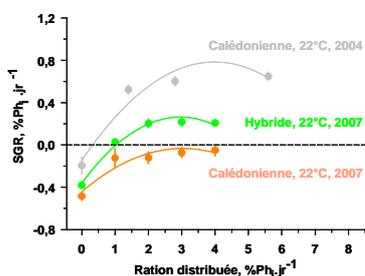


Figure 37 : courbes Croissance-Ration des deux types génétiques obtenus en 2007, comparée à celle obtenue précédemment (2004) dans des conditions similaires de température (22,2 \pm 0,1°C)

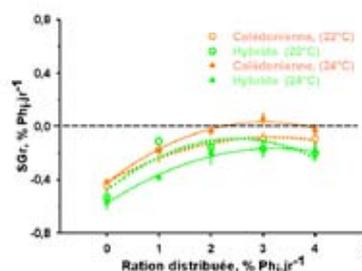


Figure 38 : courbes Croissance-Ration des deux types génétiques obtenus en 2008 en bacs extérieurs (22°C) et en bacs thermorégulés en salle (24°C)

3. Ecophysiologie et nutrition

3.1. Développement des outils

Les cages flottantes pour les expérimentations en conditions de bassin

Les expérimentations en conditions réelles du bassin d'élevage font face à de nombreuses difficultés notamment logistiques (taille des bassins, quantités de PL et d'aliment nécessaires, suivi des élevages,...). Pour contourner ces difficultés nous avons mis au point l'outil « cages flottantes » (Chim et al., 2008).

Sur la base des données d'une expérimentation réalisée dans les bassins expérimentaux de la station (6 bassins de 1000 m²) nous avons estimé la variabilité des résultats obtenus pour différents paramètres zootechniques (Tableau 3). A partir de là il nous a été possible de calculer le nombre de bassins ou d'unités expérimentales (voir encadré) nécessaires à mettre en œuvre pour montrer que des différences sont significatives, lorsqu'elles le sont, avec pour les paramètres considérés, des écarts des moyennes allant de 5% à 20%. Le tableau 3 montre ainsi que plus la différence entre deux valeurs moyennes est élevée moins il faut de bassins par traitement pour montrer que cette différence est statistiquement significative. Si nous prenons la survie comme exemple, il faudrait ainsi par traitement 207 bassins et 6 bassins pour des différences de survie respectivement de 5% et de 30%. Il doit être noté que cette étude s'est basée sur des bassins de formes et de tailles équivalentes ensemencés à la même période avec des postlarves issues d'une même population ; ces conditions ont permis de limiter la variabilité des résultats. En effet, en partant de bassins de tailles et de formes variables et en travaillant avec différents lots de postlarves ensemencés à différentes périodes, l'expérimentation aurait nécessité la mise en œuvre d'un nombre beaucoup plus important de bassins. Ainsi les expérimentations qui utilisent le bassin d'élevage des fermes de production comme « unité expérimentale » sont extrêmement

L'unité expérimentale est l'élément de base de l'expérience qui est considéré individuellement durant tout le processus expérimental. Le traitement est appliqué à l'unité expérimental en conséquence deux unités expérimentales distinctes doivent pouvoir recevoir des traitements différents. Ainsi si un produit est testé sur des crevettes dans une cage ou un bassin, c'est la cage ou le bassin qui représente l'unité expérimentale et non pas la crevette prise individuellement. Dans ce cas l'analyse statistique doit être faite sur la moyenne du paramètre étudié des animaux de la cage ou du bassin.

La mauvaise définition de l'unité expérimentale est une erreur fréquente qui conduit à des conclusions erronées.

difficiles (voire impossibles) et coûteuses à mettre en œuvre. Les crevettes élevées en cages positionnées dans un bassin d'élevage présentent des performances de survie et de crois-

sance équivalente à leurs congénères élevés directement dans le bassin (Chim et al., 2008). De la même façon que précédemment nous avons estimé la variabilité des résultats zootechniques obtenus avec les cages flottantes (Tableau 3). Nous constatons ainsi que les coefficients de variation pour les différents paramètres zootechniques mesurés, à l'exception du gain de poids, sont inférieurs pour les élevages en cage.

Tableau 3: estimation du nombre de réplifications nécessaires suivant le système d'élevage utilisé ou unité expérimentale pour les différents paramètres zootechniques mesurés (survie, poids final, croissance, Indice de conversion de l'aliment ou FCR). Le coefficient de variation moyen est égal à (la somme des écarts types/ moyenne) x100.

Type d'élevage	Paramètres	CV moyen	Différences attendues, % de la moyenne					
			5	10	15	20	25	30
Nbre de réplifications nécessaires/traitement								
Cages	Survie (%)	11	71	20	10	7	5	4
	Pds final	5	18	6	4	3	3	2
	Gain pds/jr	6	23	8	4	3	3	3
	FCR	7	32	9	5	4	3	3
Bassins	Survie (%)	16	207	48	21	12	8	6
	Pds final	8	43	12	6	4	3	3
	Gain pds/jr	5	21	6	4	3	3	3
	FCR	8	40	11	6	4	3	3

Cela s'explique par le fait que les cages sont toutes identiques et immergées dans un même environnement (peu de variabilité des conditions d'élevage entre cages à l'exception du facteur étudié). Dans ces conditions il faut moins de cages que de bassins par traitement pour montrer que des différences sont significatives, quand elles existent (Tableau 3).

Les conditions de vie de la crevette dans une cage ou un bassin ne sont pas totalement semblables dans la mesure où dans le premier cas l'animal n'a pas accès au sédiment. En effet, le sédiment, suivant son état, peut agir soit positivement (apport d'aliment naturel sous la forme de zoobenthos) soit négativement (sédiment réduit) sur la santé et la croissance de la crevette. La cage, en isolant l'animal du sédiment, d'une certaine façon uniformise les conditions d'élevage. En dehors de cet aspect qui peut venir biaiser la comparaison entre les deux systèmes, cages vs bassins, les résultats obtenus en cages flottantes peuvent, sans risque excessif d'erreur, être extrapolés aux élevages en bassin de terre.

L'IFREMER a utilisé l'outil « cage flottante » pour étudier d'une part le probiotique Bactocell et d'autre part le rôle de la nutrition sur la qualité des géniteurs (voir ci après) (Photo 6). Cet outil a également permis d'étudier, en relation avec le GFA, les performances comparées des souches génétiques

: *Stylirostris* « calédonienne », « hawaïenne » et hybride (Goyard et al., 2008).

La profession s'est approprié l'outil « cage flottante » (Photo 7). Ainsi le GFA, dans le cadre de ses actions de R&D, a réalisé sur la ferme d'Aigue Marine, des expérimentations avec des cages flottantes. Le groupement s'est notamment intéressé au probiotiques commerciaux destinés au grossissement et à la comparaison des aliments granulés produits en Nouvelle Calédonie.

Par ailleurs les deux provendes du territoire, SICA et MSV, de façon indépendante et en partenariat avec des fermes, utilisent l'outil « cage flottante » pour étudier la nutrition et faire évoluer la formulation de leurs aliments.



Photo 6 : pêche de géniteurs grossis dans des cages à la station de St-Vincent.



Photo 7 : Cages flottantes déployées par une provende (SICA) pour ses expérimentations à la ferme de Webuihoone.



Mesure du stress des animaux : radicaux libres et défenses antioxydantes

Le stress oxydant (Sox)

En conditions physiologiques, une partie de l'oxygène respiré par l'animal est transformée au niveau de la mitochondrie en espèces réactives de l'oxygène ou ERO dont font partie les radicaux libres (encadré). L'organisme produit donc en permanence des ERO, et ce de façon normale. La biologie moléculaire a permis de montrer que les ERO jouent un rôle physiologique fondamental en agissant à faible concentration comme des messagers secondaires capables :

- de réguler le phénomène de suicide programmé des cellules évoluant vers un état cancéreux;
- d'activer des facteurs de transcription responsables de l'activation de gènes impliqués dans la réponse immunitaire;
- de moduler l'expression de gènes de structure codant pour les enzymes antioxydantes.

Cependant ces ERO sont dotées de propriétés oxydantes qui les amènent à réagir, dans l'environnement où elles sont produites, avec toute une série de substrats biologiques (lipides, protéines, ADN, sucres,...). Ainsi les ERO lorsqu'elles sont en excès dans l'organisme sont particulièrement toxiques pour l'intégrité cellulaire et la physiologie de l'animal.

Afin de se protéger contre les effets toxiques de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défense qui lui permettent de réguler l'accumulation des ERO. Ainsi, il existe 3 niveaux de défenses antioxydantes :

- La prévention de la formation des ERO
- L'élimination des ERO
- La réparation des dommages causés par les ERO

Dans certaines conditions de perturbation des animaux (variations thermiques aux saisons de transition, hyperoxie ou hypoxie, sédiment contaminé, infection par un pathogène,...) il apparaît un déséquilibre occasionné par une production excessive d'ERO et/ou par un affaiblissement des systèmes de défenses antioxydantes. C'est ce déséquilibre entre la pro-

duction d'ERO et les défenses antioxydantes qui caractérise un stress oxydant (Sox) (Figure 39).

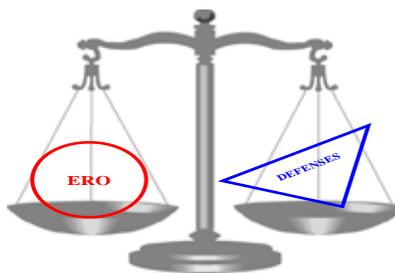


Figure 39 : Sox = déséquilibre entre ERO en excès et les défenses antioxydantes.

Pourquoi mesurer le statut Sox chez la crevette ?

Déterminer le statut du stress oxydant d'un individu est un sujet de priorité en santé humaine car de très nombreuses études indiquent qu'en dehors de son implication dans le processus de vieillissement, il existe une association étroite entre l'altération des systèmes de défenses antioxydantes et le développement de plus de 200 pathologies chez l'homme. Le stress oxydant a également été associé au développement de certaines maladies (la pneumonie, les entérites ou encore certaines infections bactériennes) infectieuses chez les animaux d'élevage terrestre (porcs, vaches et chevaux). Chez les animaux aquatiques en élevage encore peu d'études ont été réalisées sur le sujet.

Au LEAD nous nous sommes intéressés au statut du Sox chez *L. stylirostris* avec un double objectif : en premier lieu nous souhaitons nous doter d'un outil pour mesurer la réponse physiologique de l'animal à une perturbation de son environnement d'élevage et en deuxième lieu cet outil devait nous permettre de quantifier les effets de la nutrition (nutriments essentiels, probiotiques) sur les défenses antioxydantes de la crevette.

Mesure du statut du Sox chez *L. stylirostris*

L'évaluation du statut du stress oxydant passe par la mesure d'un grand nombre de bio-indicateurs. Le laboratoire a déve-

loppé les techniques pour la mesure de:

- trois enzymes antioxydantes :
 - a. la SuperOxyde Dismutase (SOD),
 - b. la Catalase (CAT) et
 - c. la Glutathione peroxydase (GPx).
- peptides antioxydants : les glutathions. Le ratio des glutathions oxydés (GSSH) sur les glutathions totaux (GSHT) est un bon indicateur du stress oxydant.
- l'activité antioxydant global (TAS)
- deux produits de l'oxydation (dégradation) des lipides et des protéines respectivement :
 - a. Malondialdéhyde (MDA)
 - b. Les carbonyles

La mesure de ces bio-indicateurs se fait dans la glande digestive, l'hémolymphe ou/et le muscle. La présentation des résultats peut se faire soit sous forme de radar (Figure 40) ou d'histogramme. Le statut du Sox est interprété dans le temps (cinétique des bioindicateurs) et/ou en comparaison entre des animaux ayant reçus différents traitements.

Transfert à la filière de la mesure du Sox?

Les nombreux résultats accumulés au cours de ces dernières années nous permettent de considérer que l'outil de mesure du statut du Sox est aujourd'hui opérationnel : il est très sensible et donne des résultats reproductibles. C'est un outil extrêmement utile pour la recherche en écophysiologie/

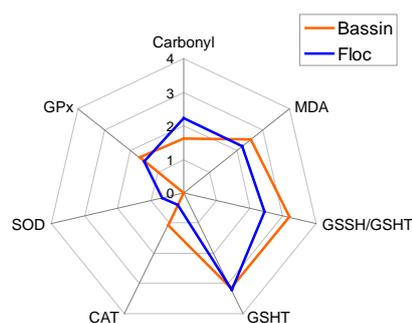


Figure 40: Présentation en radar des bioindicateurs du Sox de géniteurs élevés en bassin ou en floc. Les surfaces se recouvrent, le statut Sox n'apparaît donc pas différent en fonction du type d'élevage.

nutrition ; il nous a permis de comprendre par exemple que la crevette *L. stylirostris* est particulièrement sensible au Sox et que certains compléments alimentaires (probiotique Bactocell) pouvaient améliorer la résistance de l'animal vis-à-vis de ce type de stress. Plus généralement cet outil peut trouver des applications pour la recherche et développement en aquaculture quelque soit l'espèce considérée. Cependant son utilisation reste sophistiquée, complexe et coûteuse; il n'est donc pas envisageable de l'utiliser à terme dans le cadre de la production en ferme ou en éclosier.

3.2. Les recherches sur les probiotiques et l'élevage intensif des géniteurs

Probiotiques alimentaires en grossissement

Les vibrioses, *V. nigrilulchritudo* et *V. penaeicida*, sont les deux principales maladies connues affectant les élevages calédoniens (Herbland et Harache, 2008). Au cours des dernières années la recherche internationale en aquaculture s'intéresse de plus en plus à la lutte biologique contre les maladies bactériennes avec des méthodes durables comme notamment l'utilisation des probiotiques.

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui quand ils sont administrés à des doses adéquates confèrent un bénéfice à la santé de l'hôte (la crevette ici) (FAO/WHO, 2001).

Au cours de ces dernières 4 années, le LEAD en collaboration avec la Société Lallemand a évalué le probiotique *Pediococcus acidilactici* MA 18/5M sur la crevette *L. stylirostris* en phase de grossissement. Ce travail de recherche a été mené dans le cadre d'une thèse de doctorat CIFRE de Mathieu CASTEX financée par le MESR et la Société Lallemand (Toulouse, France). La thèse intitulée « Evaluation du probiotique bactérien *P. acidilactici* MA18/5M chez la crevette pénéide *L. stylirostris* en Nouvelle-Calédonie » a été soutenue avec succès à Paris (AgroParisTech) le 8 avril 2009 (Castex, 2009).

Etudes en laboratoire : les effets de *P. acidilactici* sur la physiologie de la crevette *L. stylirostris*

Statut nutritionnel et croissance

Le probiotique *P. acidilactici* stimule la croissance de la crevette et améliore la transformation de l'aliment : ces effets sont en partie dus à une meilleure utilisation des carbohydrates et suggèrent également une action du probiotique sur le métabolisme et/ou la croissance de l'animal (Figure 41).

Les animaux qui consomment du probiotique, comparés aux témoins, ont en effet des réserves en glycogène plus importantes, présentent une croissance plus rapide quelle que soit la ration et leur métabolisme d'entretien apparaît diminué (Castex et al., 2009).

Rôle du probiotique sur le statut du stress oxydant et la santé de la crevette

L'infection expérimentale par balnéation avec *V. nigrilulchritudo* provoque chez *L. stylirostris* un stress oxydant caractérisé par un effondrement des défenses antioxydantes, une élévation des dommages radicalaires suivis d'un pic de mortalité 48 h après l'infection (Castex et al., 2010). Le stress oxydant

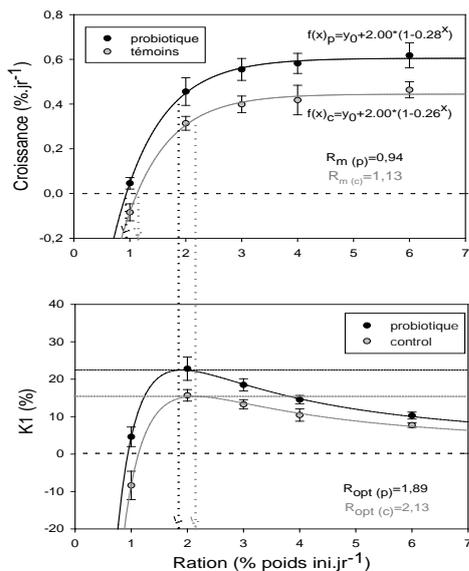


Figure 41 : Croissance relative et efficacité de l'aliment (K1) en fonction de la ration consommée par les crevettes avec ou sans probiotique. Les rations d'entretien (R_m) et optimales (R_{opt}) sont, pour les deux traitements, indiquées sur les graphiques

provoqué par l'infection était mieux contrôlé chez les crevettes traitées au probiotique ; elles présentaient notamment un niveau d'infection inférieur (20% au lieu de 40% chez les animaux témoins) et une meilleure résistance face au pathogène se traduisant par un taux de survie significativement plus élevé (75% au lieu de 58% chez les témoins).

Des expériences équivalentes ont été réalisées avec *V. penaeicida* responsable du syndrome d'hiver. De la même façon nous avons observé à plusieurs reprises que les animaux traités au probiotique résistaient mieux au « syndrome 93 » induit (Figure 42).

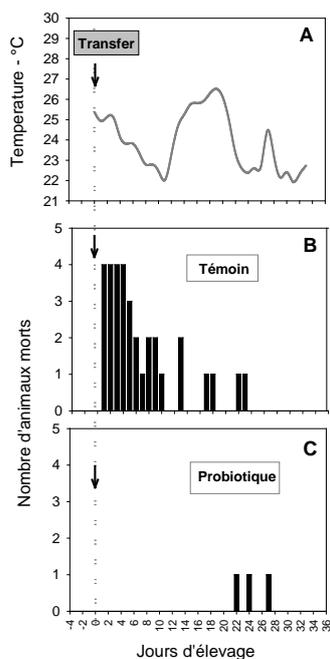


Figure 42 : Animaux morts retrouvés suite au « syndrome 93 » induit pour des animaux témoins (B) et des animaux traités par le probiotique *P. acidilactici* (C). L'évolution de la température des bacs est montrée dans la figure A

Etudes en bassins

Le probiotique *P. acidilactici* a été évalué avec des crevettes élevés en cages flottantes (voir plus haut) dans les conditions de bassins de Sea Farm (Photo 8) où le « syndrome d'été » se déclare de façon récurrente (Castex et al., 2008).

Le probiotique dans ces conditions améliore de façon significative quelques indicateurs zootechniques avec : une augmentation du taux de survie (jusqu'à +15%) et de la biomasse finale (jusqu'à +12%) et une amélioration de l'indice de conversion de l'aliment. Par ailleurs, les crevettes nourries avec un complément de probiotique présentaient dans leur glande digestive des activités enzymatiques plus importantes (amylase et trypsine) ainsi que des réserves nutritives en plus grandes quantités. Enfin la prévalence d'animaux infectés par *V. nigripulchritudo* et leur niveau d'infection (portage) étaient réduites chez les crevettes ayant reçu du probiotique.



Photo 8 : installation expérimentale de cages flottantes dans un bassin de Sea Farm

Transfert à la profession

Les résultats obtenus en laboratoire et sur le terrain ont permis de démontrer les actions positives du probiotique *P. acidilactici* sur la nutrition et la santé de la crevette *L. stylirostris*. Ces résultats ont notamment permis la certification du produit au niveau européen pour son application en crevetteculture. Alors pourquoi *P. acidilactici* n'est il pas aujourd'hui utilisé en Nouvelle-Calédonie par la filière crevetteculture ? À cette question nous pouvons apporter deux réponses :

- La première est que la profession, représentée par les fermiers, n'a pas été suffisamment convaincue par les résultats obtenus et présentés et aurait souhaité que la preuve soit faite au niveau des bassins d'élevage. Or, comme nous l'avons vu précédemment une telle démonstration est pratiquement impossible à mettre en œuvre à l'échelle d'une ferme.
- La deuxième est technique et concerne les provendes : Le probiotique ne supportant pas des températures supérieures à 80°C, son application suppose un enrobage du granulé en sortie de presse. Du fait des réserves émises par le GFA, la provende n'a pas investi dans une enrobeuse.

Elevages de géniteurs

La question de l'élevage des géniteurs en captivité a été peu traitée au cours de ces dernières années par la littérature scientifique et professionnelle ; la dernière synthèse sur le sujet remonte à 1998 (Browdy, 1998) . La technique de l'élevage extensif en bassin de terre encore utilisée aujourd'hui en Nouvelle-Calédonie a été développée dans les années quatre vingt (Ottogali et al., 1988).

Ce modèle de production est de plus en plus remis en question au niveau mondial pour être remplacé par des systèmes intensifiés. Cette évolution vers l'intensification répond à la nécessité de renforcer la biosécurité (minimum de renouvellement d'eau et de rejet, production de juvéniles SPF,...) et de perfectionner le contrôle des élevages notamment pour ce qui concerne les paramètres physicochimiques du milieu (température et salinité) et l'alimentation.

Le LEAD a envisagé cette problématique en explorant deux techniques originales d'élevage issues des recherches de l'IFREMER : en cages flottantes et en floc. Concernant la technique en cage, nos travaux n'en sont qu'à leur début alors que celle en floc est déjà opérationnelle à Tahiti où des géniteurs de *L. stylirostris* sont produits suivant cette méthode depuis une vingtaine de générations. Le projet « floc » du LEAD consiste dans un premier temps à adapter aux conditions calédoniennes la technique mise au point au COP (IFREMER, Tahiti) et dans un deuxième temps à approfondir nos connaissances du fonctionnement de ce système d'élevage en vue de son amélioration et normalisation.

Expérimentation en cages flottantes

Une expérimentation a été réalisée par L.-M. Bourgue (stage de césure étudiant ingénieur de AgroParisTech) afin d'évaluer la faisabilité d'élever des géniteurs en cages flottantes dans le bassin (Bourgue, 2009).

Six cages (Photo 9) avaient étéensemencées avec uniquement des femelles (71 anx par cage, soit 8.8 anx/ m²) d'un poids moyen de 22,5 g. Un bassin qui servait de témoin avait reçu des crevettes du même lot à raison de 0,9 anx/m². La phase de grossissement a duré 3 mois et le poids moyen des animaux à l'issue des élevages était de 45 g. Quelque soit le système d'élevage, aucune différence des résultats zootechniques n'étaient mise en évidence : des croissances et survies similaires ont été obtenues.



Photo 9 : Elevage de géniteurs en cages flottantes

En termes de reproduction les femelles élevées en cages ont pondu davantage d'œufs par ponte (+61%) et produit plus de nauplii et de zoé3 (+48%) (Tableau 4).

Tableau 4: résultats comparés de la reproduction des géniteurs en fonction de leur élevage d'origine

	Elevage bassin	Elevages cages	Valeur de p
Nbre d'œufs/ponte	105 000 ± 9 000	156 000 ± 7 000	0,05 (*)
Nbre de nauplii /femelle	52 000 ± 7 900	84 000 ± 9 600	0,03 (*)
Nbre de Z3 /femelle	42 000 ± 14 600	68 000 ± 8 500	0,20 (NS)

La méthode en cage flottante permet d'intensifier la production des géniteurs (10 fois plus qu'en bassin) ce qui autorise d'une part un gain d'espace et d'autre part un meilleur contrôle des élevages. Ainsi plusieurs causes peuvent expliquer les performances de reproduction supérieures des femelles élevées en cages :

- Les conditions y sont mieux contrôlées : ombrage du filet et alimentation sur mangeoire;
- Les animaux dans les cages ne sont pas en contact avec le sédiment du bassin qui, dans certains cas, peut être contaminé et néfaste à la santé de l'animal.

Cette démonstration de la faisabilité d'élever en cages des géniteurs doit être confirmée par de nouvelles expérimentations en particulier si la profession souhaite le transfert de cette technologie.

Production de géniteurs en floc

L'élevage en floc est basé sur le développement dans la colonne d'eau d'une population diversifiée de microorganismes comprenant les micro-algues, du zooplancton (copépodes, rotifères, nématodes, métazoaires...) et des bactéries (Gougenheim et Chim, 2009) (Photo 10). Ces micro-organismes jouent le rôle d'un filtre biologique en pleine eau en dégradant la matière organique en excès et en éliminant les formes azotées toxiques. Le système d'élevage en floc ne nécessite donc pas de renouvellement de l'eau mais en contre-partie il doit être constamment oxygéné et remis en suspension. En outre, la microfaune, la microflore et les bactéries constituent



Photo 10 : bac d'élevage en floc et vues en microscopie optique des floculats

un complément alimentaire frais riche en vitamines et oligo éléments essentiels à la nutrition des crevettes.

Grossissement et reproduction comparés des géniteurs issus des élevages flocs et traditionnels

Les résultats de l'expérience référencée FEG10-03 (troisième essai de l'année 2010 ; du 20 janvier au 1er juin 2010) ont fait l'objet d'une fiche bio (Huber et al., 2010) et de Posters (Chim et al., 2010a ; Chim et al., 2010b).

Les résultats de la phase de grossissement sont résumés dans le tableau 5. A noter une biomasse 40 fois plus élevée dans le système floc.

Tableau 5: Taux de survie, croissance journalière, biomasse finale et indice de conversion de l'aliment granulé pour les élevages en bassin et en floc (ET = Ecart Type)

	Survie (%)	ET	Croissance (g.jr ⁻¹)	ET	Biomasse finale (g.m ⁻²)	ET	Conversion aliment	ET
Bassins (n=2)	64	11,5	0,175	0,007	13,65	1,54	22	17,67
Flocs (n=4)	74,7	8,2	0,133	0,01	600	97	18,21	6,28

Les résultats de reproduction montrent de meilleures performances des géniteurs provenant des élevages en floc avec :

- un délai raccourci entre l'épédonculation et la maturation ;
- un nombre de pontes plus important (Figure 43) ;

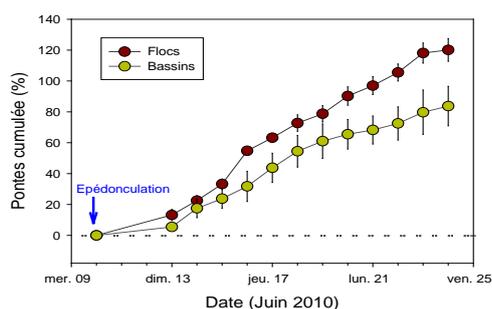


Figure 43 : Pontes cumulées après épédonculation pour les géniteurs provenant des élevages standards et des élevages en floc

- un nombre moyen supérieur d'œufs et de nauplii produits par ponte (Tableaux 5 & 6).

Tableau 5 : nombre total de pontes obtenues sur la période de l'essai. Nombre total d'œufs et de nauplii calculés par rapport aux données du tableau

	Bassins		Flocs		Taux de variation floc/bassin	Valeur de p
	Moyenne	n	Moyenne	n		
Nbre moy œufs par ponte	151638	60	173099	87	14,15%	0,081
Nbre moy Nauplii par ponte	92764	34	121215	34	30,67%	0,029

Tableau 6 : nombres moyens d'œufs et de nauplii obtenus par ponte pour les deux systèmes d'élevages considérés

	Bassin	Floc	Taux de variation floc/bassin
Nombre total de pontes	84	120	42,86%
Nombre total d'œufs	12 737 592	20 771 880	63,08%
Nombre total de nauplii	7 792 176	14 545 800	86,67%

Une extrapolation des résultats expérimentaux montre que les géniteurs issus du floc produisent 86% de nauplii en plus que ceux provenant des élevages extensifs (tableau 6).

Conclusions et perspectives

Ce premier essai d'élevage de géniteurs *L. stylirostris* en système floc (SF) mis au point par l'IFREMER Tahiti démontre la faisabilité de cette méthode originale en Nouvelle-Calédonie. Comparé au système extensif en bassin de terre le SF présente de nombreux avantages en termes techniques, économiques et de biosécurité.

Les avantages techniques et économiques découlent de l'intensification de l'élevage qui est par ailleurs très économe en eau (Tableau 7). Par ailleurs, le besoin réduit en eau du SF permet de mieux contrôler sa qualité et notamment sa température avec un chauffage en hiver (serre, résistance électrique...) et une toile d'ombrage en été.

Tableau 7 : besoin en eau pour produire 1 kg de biomasse de reproducteurs. Coûts comparés (en F CFP) de pompage et d'aération entre le système floc et l'élevage extensif en bassin

	Bassin	Floc
Qté eau/kg de biomasse produite (m ³ /kg)	6558	27
Energie pompage/kg de biomasse produite (kWh/kg)	546	2,25
Energie aération/kg de biomasse produite (kWh/kg)	0	22,95
Prix Kwh	32	
Coût pompage/kg de reproducteurs produits (Fcfp)	17581	72
Coût aération/kg de reproducteurs produits (Fcfp)	0	739
TOTAL COÛTS	17581	811

En terme de biosécurité les faibles quantités de rejets du système SF permettent d'envisager leur traitement dans le cadre d'installations bio-sécurisées de type quarantaine ou conservatoire.

En perspective de ce travail nous envisageons des essais complémentaires pour évaluer l'intérêt du système floc (i) en phase de grossissement en saison froide (SF avec eau thermorégulée) et (ii) pour produire des reproducteurs et notamment des mâles aux mois les plus chauds (février, mars). Cet essai est en cours à la station de St-Vincent et doit se terminer au mois de février 2011.

Sur la base des résultats de ces essais et de ceux obtenus à Tahiti, il sera possible de transférer cette méthode d'élevage à la profession de Nouvelle-Calédonie. La méthode d'élevage en SF sera améliorée dans le temps grâce à la R&D sur le sujet et dont deux axes sont à ce jour envisagés: dans le premier nous optimiserons la méthode d'élevage en floc notamment au niveau des quantités de lumière et du rapport C/N pour promouvoir un développement équilibré entre phytoplancton et bactéries hétérotrophes. Dans le second axe nous tenterons d'identifier les facteurs (nutritionnels Probiotiques ? physico-chimiques ?) qui améliorent les performances de reproduction des géniteurs issus des élevages en SF.

4. Références bibliographiques

- Bourgue, L-M. 2009. Première évaluation de l'élevage en cage de géniteurs de *Litopenaeus stylirostris* et influence des antioxydants nutritionnels et des acides gras essentiels sur les performances de reproduction et la qualité larvaire. Rapport destage de 2ème année AgroParisTech, Ifremer/LEAD/RStages 2009-02, 35 pp.
- Browdy, C.L. 1998. Recent developments in penaeid broodstock and seed production technologies: Improving the outlook for superior captive stocks. *Aquaculture* 164, 3-21.
- Castex, M. 2009. Evaluation du probiotique bactérien *Pediococcus acidilactici* MA18/5M chez la crevette pénéide *Litopenaeus stylirostris* en Nouvelle-Calédonie. Thèse de doctorat en Physiologie Nutrition, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech, avril 2009, 399pp.
- Castex, M., Chim, L., Pham, D., Lemaire, P., Wabete, N., Nicolas, J.-L., Schmidely, P., Mariojouis, C. 2008. Probiotic *P. acidilactici* application in shrimp *Litopenaeus stylirostris* culture subject to vibriosis in New Caledonia. *Aquaculture*, 275: 182-193.
- Castex, M., Lemaire, P., Wabete, N., Chim, L. 2009. Effect of dietary probiotic *Pediococcus acidilactici* on the antioxidant defences and oxidative stress status in shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *Aquaculture*, 294, 306-313.
- Castex, M., Lemaire, P., Wabete, N., Chim L. 2010. Effect of probiotic *Pediococcus acidilactici* on antioxidant defences and oxidative stress of *Litopenaeus stylirostris* under *Vibrio nigripulchritudo* challenge. *Fish & Shellfish Immunology*, 28, 622- 631.
- Chim, L., Castex, M., Pham, D., Brun, P., Lemaire, P., Wabete, N., Schmidely, P., Mariojouis, C. 2008. Evaluation of floating cages as an experimental tool for marine shrimp culture studies under practical earthen pond conditions. *Aquaculture*, 279, 63-69.
- Chim, L., Huber, M., Cardona, E., Lemaire, P., Brun, P., Goguenheim, J. 2010a. Floc culture system applied for intensive broodstock farming of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*. Poster présenté à Tahiti Aquaculture 2010. Papeete du 6 au 11 décembre.
- Chim, L., Huber, M., Lemaire, P., Brun, P., Goguenheim, J. 2010b. Floc culture system applied for intensive broodstock farming of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*: first trial carried out in New Caledonia. In book of abstracts. Poster présenté à Aquaculture Europe 2010. Porto, du 5 au 9 octobre 2010.
- FAO/WHO 2001. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. 34pp.
- Goguenheim, J., Chim, L. 2009. Elevage de géniteurs de *Litopenaeus stylirostris* en système floc : synthèse bibliographique et protocole de production. Ifremer/LEAD/NotCad 2009-01, 14 pp.
- Goyard, E., Goarant, C., Ansquer, D., Broutoi, F., Brun, P., de Decker, S., Dufour, R., Galinié, C., Mailliez, J.-R., Peignon, J.-M., Pham, D., Vourey, E., Patrois, J., Harache, Y. 2008. Disease challenge studies of inbred and outbred shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) in New Caledonia. *Aquaculture Health International*, 13, 28-31.
- Herbland, A., Harache, Y. 2008. Santé de la crevette d'élevage en Nouvelle-Calédonie. Editions Quae: 142 pp.
- Huber, M., Cardona, E., Fersing, G., Lemaire, P., Brun, P., Mailliez, J.R., Broutoi, F., Peignon, J.M, Marteau, A. L., Goguenheim, J., Chim, L. 2010. Premiers géniteurs de *L. stylirostris* issus d'élevages hyper-intensifs en floc en Nouvelle-Calédonie : performances comparées avec les géniteurs des élevages traditionnels. Ifremer/LEAD/Fiche biotechnique 2010-02.
- Ottogalli, L., Galinié, C., Goxe, D. 1988. Reproduction in captivity of *P. stylirostris* over ten generations in New Caledonia. *J. Aqua. in the Tropics*, 3, 111-125.



Génétique

Les effets d'hétérosis entre la souche Calédonienne de *L. stylirostris* et celle importée d'Hawaii ont été confirmés mais la sensibilité inattendue de la souche Hawaii au virus IHNN n'a pas permis une application à court terme des résultats. Le transfert des connaissances acquises dans cette opération a été effectué de façon suffisamment convaincante pour que les professionnels s'approprient le sujet : ils envisagent la réintroduction de la souche Hawaii et sa gestion en milieu confiné pour que les fermes puissent produire des hybrides de première génération à chaque cycle. Des problèmes d'ordre non scientifique (rupture du contrat passé entre la profession et le fournisseur hawaïen, dissolution de l'UPRAC) pourraient cependant venir hypothéquer la suite de cette opération. Parallèlement, l'Ifremer a apporté ses compétences sur la question des modalités de conservation et d'exploitation des ressources génétiques domestiquées afin que la profession puisse bâtir un schéma de bio-sécurisation de la filière.

Les problèmes logistiques et zootechniques engendré par les retards du chantier de réhabilitation de la station ont conduit à reporter les essais de réfrigération du sperme qui pourraient faciliter certains aspects de biosécurité et la gestion des croisements.

Enfin, bien que non prioritaire, l'approche d'amélioration génétique par sélection a progressé sur le chapitre de l'identification de marqueurs potentiels de résistance. Mais l'application de ces résultats est encore lointaine, tant par les questions scientifiques qui restent posées que par la question de la transférabilité de tels résultats à une profession encore peu organisée vis-à-vis de la génétique. Il est à noter qu'une opération de sélection pilote sur un critère de croissance précoce accompagnée par l'Ifremer semble rencontrer un certain succès auprès de certains professionnels avant même que des tests rigoureux aient pu être mis en place pour évaluer l'effet réel de cette pratique.

1. Historique et rappel des enjeux

Partant du constat de base que les caractéristiques de chaque individu, quelle que soit son espèce mais en particulier s'il s'agit d'un individu élevé à des fins économiques, dépendent (i) de l'environnement dans lequel il a vécu depuis sa conception, (ii) de ses gènes et (iii) du niveau d'adaptation de ses gènes à cet environnement, il apparaît qu'un programme de recherche en soutien au développement d'une filière de production biologique peut difficilement faire l'impasse sur une approche génétique. Les exemples sont nombreux en agriculture et en aquaculture pour démontrer cette assertion. Mais il est non moins évident que cette approche doit être considérée et présentée comme complément et non comme une alternative à l'amélioration des pratiques d'élevage. C'est dans cet esprit que les approches génétiques de DéSanS puis de DEDUCTION se sont inscrites.

Compte tenu de la faible variabilité génétique disponible au sein du cheptel crevetticole calédonien, l'introduction de variabilité génétique et le testage d'une stratégie d'amélioration génétique par croisement de souches avait été identifié dès 2002 comme les priorités en matière de génétique pour le développement de la filière crevetticole calédonienne (Goyard et al., 2002 ; Anonyme 2002 ; Goyard et al., 2003).

A l'issue du projet DéSanS, l'opération d'introduction de sang neuf pouvait être considérée en bonne voie : la commission d'évaluation de DéSanS avait souligné la qualité du travail réalisé lors de cette introduction, tant sur le plan des précau-

tions sanitaires que de la collecte et de la conservation de la variabilité introduite, les stocks présents en Nouvelle-Calédonie représentant désormais la principale ressource génétique domestiquée et sanitaire contrôlée de cette espèce au niveau mondial. Le caractère crucial de la question de la conservation à long terme de la variabilité des deux souches désormais présentes a été souligné lors de la restitution de DéSanS, avec comme principale question la définition du maître d'oeuvre de cette opération. Les premières expérimentations avec ce nouveau matériel génétique avaient permis de conclure que les performances de l'hybride F1 testé par rapport à la souche locale semblaient montrer un effet d'hétérosis notable (environ 30%) en faveur des F1 (anonyme 2006, Goyard et al., 2006 ; Herbland et Harache, 2008) : ces résultats incitaient fortement à diffuser des F1 auprès des éleveurs, en transférant aux écloséries le protocole de production en routine de cet hybride.

Cependant, il avait été noté qu'un tel transfert supposait d'un point de vue scientifique de caractériser plus précisément les composantes de l'effet d'hétérosis (« vigueur hybride ») pour la survie et la croissance. Il s'agissait en particulier de :

- déterminer si la meilleure survie observée était spécifique vis-à-vis d'un vibrio donné ou si elle correspondait à une meilleure résistance globale ;
- caractériser éventuellement les paramètres physiologiques pouvant rendre compte de cette meilleure résistance ;

- examiner si la meilleure croissance s'accompagne d'une augmentation du métabolisme de base ;
- étudier l'hypothèse d'un effet d'hétérosis de compétition (meilleure croissance des hybrides liée uniquement à une compétition alimentaire avec le témoin présent dans le même bassin).

Parallèlement, l'approche de sélection expérimentale pour la survie hivernale menée pendant 5 générations à la station de Saint-Vincent, avait démontré deux points importants (Goyard et al., 2005, Herbland et Harache, 2008) : d'une part, le fait que la souche calédonienne pouvait encore répondre à une pression de sélection, mais lentement du fait de sa faible variabilité, et qu'elle pouvait le faire sur un caractère a priori multifactoriel comme la résistance (ou la tolérance) à un vibron pathogène. Néanmoins, il apparaissait important de :

- caractériser plus précisément la « robustesse » de cette résistance, en testant par exemple d'autres souches de vibrions ;
- vérifier l'absence d'éventuelles réponses corrélées négatives pour d'autres critères : croissance, résistance

- au vibron impliqué dans les mortalités estivales ;
- caractériser éventuellement les paramètres physiologiques pouvant rendre compte de cette meilleure résistance.

En outre, les résultats obtenus en collaboration avec l'équipe Ifremer de Montpellier (Département Biologie des Organismes Marins Exploités) sur l'expression de gènes codant pour des peptides anti-microbiens, bien que préliminaires, permettaient d'ouvrir des pistes intéressantes pour le long terme et intégrant des approches de sélection assistée par marqueurs (de Lorgeril, 2005 ; de Lorgeril et al., 2005 ; Gueguen et al. 2006). De telles approches, complexes et coûteuses, seraient d'autant plus efficaces si elles pourraient être mises en œuvre au sein d'une population à variabilité génétique plus importante que celle de la souche calédonienne, comme par exemple la population composite qui pourrait être issue du brassage des gènes des deux souches calédonienne et hawaïenne.

2. Démarche

À partir des conclusions du projet DESANS, du rapport d'évaluation de ce projet et des questions des professionnels, l'Ifremer a proposé une approche génétique au sein du projet DEDUCTION structurée en trois tâches visant l'exploitation optimisée des ressources génétiques disponibles (Annexe G1). Ces trois tâches correspondaient d'une part à la nécessité de protéger ces ressources et d'autre part aux deux stratégies potentiellement applicables à court-moyen terme (amélioration génétique par croisement) et à moyen-long terme (amélioration génétique par sélection).

Lors du Comité Technique où ce projet a été présenté et accepté, la remarque principale de la profession avait concerné

la question de la conservation des souches : la sortie d'un document de bilan de l'opération quarantaine incluant les éléments déjà communiqués sous différentes formes (Patrois et al., 2006 ; Primot et al., 2006) devant être considérée comme prioritaire. Il avait été entendu que les tâches identifiées dans le 3ème volet « sélection génétique » ne seraient développées que dans la mesure du possible et en fonction des résultats obtenus sur le volet « croisement », largement prioritaire compte tenu des résultats déjà obtenus, et en fonction des résultats obtenus sur la recherche de marqueurs génétiques de caractères d'intérêt.

3. Résultats et problèmes rencontrés

3.1. Évaluation de l'intérêt de la souche Hawaii

Confirmation de l'hétérosis entre souches pour les caractères de croissance et de survie dans des conditions où le virus IHHN ne s'exprime pas

La seconde année de testage de la souche Hawaii et des hybrides de première génération issus du croisement des deux souches pures a permis non seulement de confirmer les résultats obtenus en première année (comparaison de performances des différentes populations élevées en mélange dans un environnement commun), mais aussi de :

- vérifier l'absence d'effet du sens du croisement sur les performances zootechniques ;
- s'assurer que les effets génétiques observés étaient équivalents qu'ils soient obtenus en conditions de compétition (élevages des 3 types génétiques en mélange)

ou hors compétition (élevages des 3 types génétiques séparés).

- faire pratiquer des tests à la profession sur un site affecté par *V. nigripulchritudo* ; ces tests ont été réalisés en cages à défaut de pouvoir les mener à échelle pilote.

L'ensemble de ces résultats ont été publiés sous différentes formes (Goyard et al, 2007a et b ; Goyard et al, 2008a,b et c; Patrois et al., 2007 ; Anonyme, 2007) dont la plus synthétique est résumée dans la figure 44. En outre, il a été vérifié que les conditions expérimentales de testage à la station de

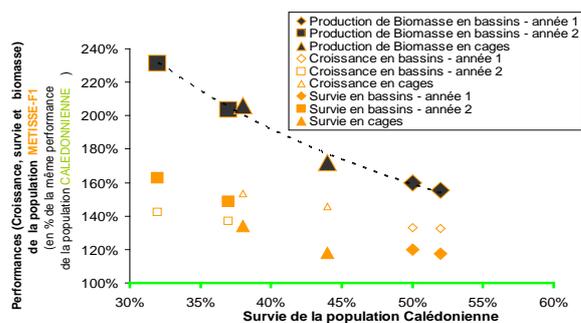
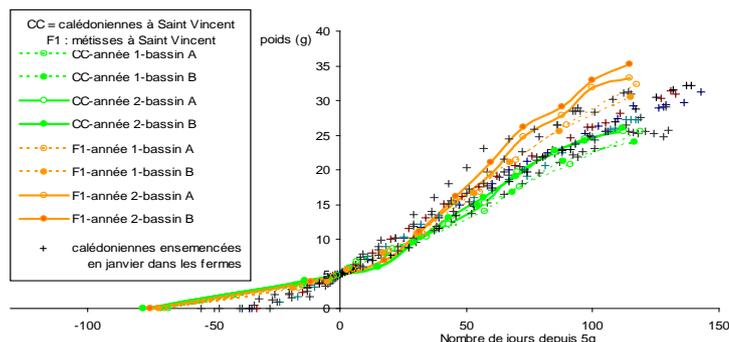


Figure 44 : besoin en eau pour produire 1 kg de biomasse de reproducteurs. Coûts comparés (en F CFP) de pompage et d'aération entre le système floc et l'élevage extensif en bassin

Figure 45 : croissances observées dans les élevages expérimentaux de calédoniennes (« CC ») et d'hybrides de première génération (« F1 ») et dans les élevages commerciaux de calédoniennes extraits de la base stylogensemencés à la même période de l'année (janvier)



La sensibilité de la souche Hawaii au virus IHNN

La troisième année de testage (2008) a fait apparaître que la souche Hawaii est plus sensible au virus IHNN que ne le laissaient penser (i) les résultats des essais préalables réalisés par le laboratoire de référence de l'OIE à l'Université d'Arizona avant l'introduction de 2005 (résultats qui avaient conduit la DAVAR à autoriser l'introduction de la souche) et (ii) les premiers contrôles de portage d'IHNNV par les différents types génétiques expérimentés en Nouvelle-Calédonie. La survie et la croissance de la souche Hawaii, jusqu'alors du même ordre que celles de la souche calédonienne sont devenues très mauvaises (proche de 0%) en 2008. Les charges virales observées sur ces animaux en 2008 sont d'après les travaux de la DAVAR exceptionnellement élevées par rapport aux standards habituellement observés en Nouvelle-Calédonie.

Parallèlement, durant cette troisième année de testage, les hybrides de première génération ont semblé peu affectés en survie mais leur croissance s'est avérée moins bonne que celles des calédoniennes.

Quatre hypothèses ont été avancées pour expliquer ce décalage entre les observations de 2008 et les précédentes sur les hawaïennes et pour expliquer l'apparente recrudescence du virus IHNN dans les élevages de Calédoniennes. Parmi ces hypothèses qui sont présentées dans le chapitre « suivi de filière », celle de rôle de réacteur à virus de la population hawaïenne. Compte tenu des risques associés, l'UPRAC-NC a pris la décision, en concertation avec l'Ifremer, de supprimer la souche et les métisses. Cette décision a bien sûr eu pour conséquence de reporter sine die les opérations de transfert physique de la souche Hawaii dans les éclosiers privés.

Saint-Vincent n'avaient pas induit chez les calédoniennes des performances anormalement basses pour la période d'ensemencement utilisée (mois de janvier – Figure 45) : les écarts relatifs entre types génétiques observés en expérimentation sont donc représentatifs de ceux qui pourraient être obtenus sur les fermes.

En outre, la troisième année de testage a permis de réaliser une infection expérimentale qui a clairement démontré la meilleure résistance des hybrides F1 à la bactérie pathogène *V. penaeicida* (Goyard et al, 2009).

3.2. Conservation et exploitation de la diversité génétique disponible

Biosécurité : la question du conservatoire prise en main par la profession

Le bilan de l'expérience acquise durant DESANS en matière de quarantaine et de conservatoire a fait dès le début de DEDUCTION l'objet d'un rapport complet présentant non seulement les techniques d'élevage utilisées et les résultats obtenus, mais aussi l'ensemble des différents schémas d'organisation possible pour que la filière puisse mettre en place un conservatoire de souches en Nouvelle-Calédonie (Patrois et al ; 2007a et b – Figure 44). Ce rapport a également fait l'objet d'une réunion de présentation aux partenaires.

En outre, les protocoles de prégrossissement en eau claire de post-larves jusqu'à une taille compatible avec le marquage (poids moyen de 1–2 g) ont fait l'objet d'une fiche biotechnique à partir de l'expérience de DESANS (Peignon et al ; 2006). Compte tenu des retards dans la réhabilitation de la station et plus précisément en l'absence du nouveau bâtiment dans lequel était prévue une salle de prégrossissement en circuit fermé, ce document reste une référence permettant d'élever séparément des familles biparentales d'animaux destinés à devenir des géniteurs.

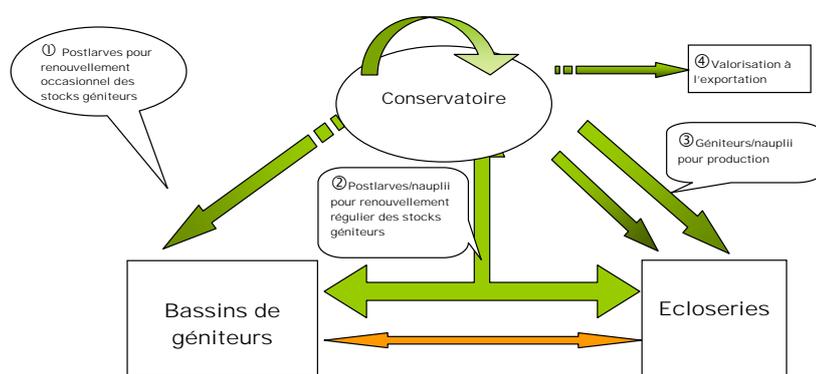


Figure 44 : Schéma des différents modes de fonctionnement possible pour un conservatoire de crevette en Nouvelle-Calédonie en fonction du type de fonctionnement

La reproduction des différents types génétiques et la réfrigération du sperme: peu de données complémentaires

Cette partie du programme a peu progressé et le seul produit délivré est une fiche de synthèse sur la reproduction de la souche Hawaii reprenant les résultats obtenus sous DESANS et ceux obtenus sous DEDUCTION (Figure 45). Les raisons essentielles de ce décalage avec l'attendu sont :

L'hypothèse selon laquelle la souche Hawaii aurait besoin d'au moins 12 mois d'âge et/ou 75 grammes de poids moyen pour les femelles pour enregistrer des performances reproductives se rapprochant de celles de la souche calédonienne, n'a donc pas pu être vérifiée ni infirmée du fait du mauvais état général du cheptel lié à la sensibilité de la souche Hawaii au virus IHHN (qui s'est révélée en 2008 mais qui était vraisemblablement

- les retards dans la réhabilitation de la station au niveau des bassins de production de géniteurs, de la station de pompage, de l'écloserie. Ces retards ont engendré de grosses difficultés de gestions zootechnique, et par voie de conséquence de gros problèmes de qualité de géniteurs. Dans ces conditions, expérimenter sur des géniteurs de qualité aléatoire, sans véritables réplicats n'avait pas de sens, que ce soit sur les questions posées sur la souche Hawaii ou sur la question de la réfrigération du sperme qui requiert de disposer d'animaux en bonne condition physiologique et de qualité peu variable ;
- la sensibilité de la souche Hawaii à IHHNV qui s'est révélée en 2008 mais qui était vraisemblablement déjà fortement présente sur les géniteurs dès 2007 et qui pourrait avoir affecté les capacités reproductives des animaux hawaïens au fur et à mesure de sa contamination peut-être dès 2006 (Mermoud com. pers.) ;
- la suppression de la souche Hawaii à mi-DEDUCTION.

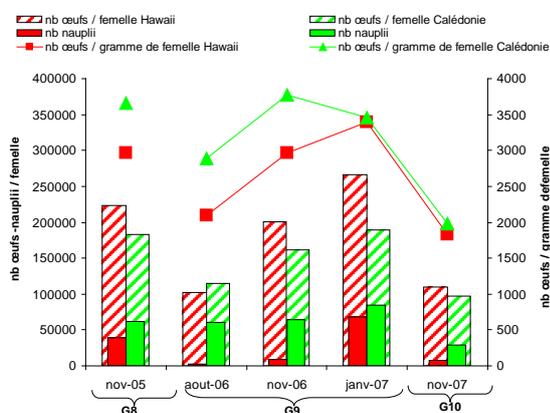


Figure 45 : production d'œufs et de nauplii dans les souches Calédonie et Hawaii (8ème, 9ème et 10ème génération) en fonction des essais

déjà fortement présent sur les géniteurs dès 2007 – Mermoud com. pers.). Ce virus peut avoir affecté les capacités reproductives des animaux hawaïens dès 2006.

Néanmoins la sensibilité de la souche hawaïenne au virus IHNN a conduit à la conclusion que sa réintroduction ne pouvait être envisagée que dans un contexte biosécurisé permettant de produire des géniteurs de souche pure SPF et satisfaire la demande de la filière en nauplii hybrides qui auraient alors le statut SPF. Or on sait que la souche Hawaii est repro-

duite sans problème apparent dans les installations biosécurisées d'Hawaii (Wyban, com. pers.), ce qui va aussi dans le sens des observations faites en Nouvelle-Calédonie : les animaux hawaïens de la génération sortis de quarantaine avec un statut SPF avaient pu se reproduire de façon similaire aux témoins calédoniens.

La reproduction de la souche dans un conservatoire biosécurisé ne devrait donc pas poser de problème majeur.

3.3. Amélioration génétique par sélection

Caractérisation de la lignée de sélection pour le syndrome 93

Le matériel biologique issu de la sélection expérimentale pour la résistance au syndrome d'hiver dans le cadre du projet DéSanS a continué à être exploité pour la recherche de marqueurs de résistance (cf ci-dessous) à partir des échantillons prélevés au cours de DéSanS. Compte tenu de la difficulté à maintenir l'ensemble des lots dans la station de Saint-Vincent en plein chantier et des priorités en matière d'amélioration génétique par croisement, la lignée témoin n'a pas été conservée, si bien que la caractérisation de la lignée sélectionnée n'a pu être approfondie.

En final, cette opération de sélection expérimentale a donc permis de :

- confirmer que la faible variabilité de la souche calédonienne est compatible avec une capacité de réponse (tout aussi faible) à la sélection ;
- mesurer des différences entre niveaux d'expression de certains gènes de résistance entre individus sélectionnés et non sélectionnés, suggérant ainsi que ces gènes pouvaient être des marqueurs utilisables en sélection.

Validation des bio-essais de type mini-array

L'étude de l'expression de gènes codant pour des peptides antimicrobiens qui a démarré au cours de DESANS en relation avec l'équipe de Montpellier (Penaeidines 2-1, 3-1, 3-2 et 4, Lysozyme, Cystéines I et II, ALF (Anti-Lipoplysaccharide Factor), Crustine II) a permis de mettre en évidence le caractère prédictif de certains d'entre eux (Penaeidines 2 et 3-1, ALF) vis-à-vis de la capacité individuelle des crevettes à survivre à une infection (de Lorgeril et al., 2008; Figure 46). Il est à noter que ces résultats ont été obtenus en n'étudiant pour le moment que des crevettes en stade C de leur cycle de mue.

Deux séries de prélèvements ont été réalisées et devraient permettre de répondre à des questions prioritaires avant d'aller plus loin dans les recherches visant l'application des résultats précédents :

- les caractères étudiés (niveau d'expression plus ou moins élevé de tel ou tel peptide) sont-ils stables dans le temps entre les individus ? (autrement dit : un individu montrant un niveau élevé d'expression

pour un stade de mue donné montrera-t-il un niveau équivalent au même stade mais un ou plusieurs cycles plus tard ?)

- quelles sont les variations de ces niveaux d'expression au cours d'un cycle de mue ?



Figure 46 : Analyse Factorielle des Correspondances mettant en évidence que les peptides antimicrobiens étudiés permettent de discriminer les animaux qui vont mourir au cours d'une infection expérimentale de ceux qui vont survivre

Sélection expérimentale sensu stricto

Le brassage de gènes permettant d'obtenir une population composite à variabilité élargie à partir des deux souches calédonienne et hawaïenne n'a pas été commencé compte tenu des difficultés logistiques déjà évoquées.

Néanmoins, compte tenu des résultats sur la sélection « croissances » obtenus à Tahiti sur une souche proche de la souche calédonienne avant 2002, l'Ifremer a accompagné la profession calédonienne dans une expérience pilote de sélection pour la croissance sur un critère de taille des post-larves en fin

de nurserie. Cette expérience pilote avait débuté dans les écloseries de Mara, de Montagnès et de Koné au cours de DéSanS. Les deux premières ont fini par abandonner cette opération compte tenu de la difficulté de maintenir en parallèle la population sélectionnée et la population témoin non sélectionnée à chaque génération. Seule l'écloserie du Nord a poursuivi cet effort. Malgré de multiples tentatives de contractualisation d'une expérimentation in situ qui aurait permis d'évaluer objectivement le gain réalisé en 7 générations de sélection, la

comparaison de la lignée témoin et de la lignée sélectionnée n'a pu avoir lieu pour des raisons de politique de l'entreprise vis-à-vis de ses partenaires externes. La validation de cette stratégie de sélection n'a donc pas été menée à bien. Cependant, selon différents professionnels, le tri de post-larves ainsi

effectué en fin de nurserie semble avoir eu un effet très favorable sur le cheptel de cette éclosure, si bien que les autres éclosures commencent à constituer leurs lots de géniteurs à partir de post-larves sélectionnées en fin de nurserie.

4. Transfert et perspectives

4.1. Évaluation de l'intérêt de la souche Hawaii

Les tests de résistance à IHHNV : un point de méthode à éclaircir

L'expérience de transfert de la souche de *L. stylirostris* domestiquée à Hawaii en Nouvelle-Calédonie, environnement où avait été introduit 30 ans plus tôt le virus pathogène IHHN a révélé sa très forte sensibilité à ce virus alors que des tests

standardisés dans un laboratoire de l'OIE n'avaient pas conduit à une sensibilité aussi forte. Ce point méritera d'être éclairci car il remet en question la méthode d'évaluation de la sensibilité à IHHNV.

Le bilan de la profession sur la souche Hawaii, en accord avec celui de l'Ifremer

Il est à noter qu'une partie de ces expérimentations a été menée en collaboration étroite avec l'UPRAC-NC, ce qui a contribué à l'appropriation par la profession des résultats et des perspectives associées. En effet, simultanément à la décision de suppression de la souche hawaïenne, l'UPRAC-NC a affirmé par écrit sa volonté de mettre en œuvre un programme «SPF» destiné à protéger la filière de problèmes viraux, et de développer une approche génétique incluant la réintroduction de la souche Hawaii dans les meilleures conditions possibles. Ces résolutions correspondent à la fois à une reconnaissance du travail effectué par l'Ifremer et à une évolution marquée de la profession : le transfert des connaissances acquises sur la problématique de l'introduction de la souche Hawaii a permis

à la profession de bien comprendre les résultats scientifiques obtenus et de s'approprier les opérations qui en découlent. En particulier, la profession intègre le fait que les résultats obtenus sur les hybrides de première génération durant les deux premières années de testage, alors que le niveau de contamination par IHHN était encore bas, plaident en faveur d'une réintroduction permettant d'exploiter la vigueur hybride démontrée, mais à condition que la souche réimportée soit ou bien résistante, ou bien élevée dans un environnement bio-sécurisé sans contact avec le virus et uniquement dans le but de produire des géniteurs à utiliser en croisement avec la souche locale à chaque génération.

...mais des péripéties qui redessinent le contexte

Ces conclusions ont été établies dans un contexte où l'on pensait que le contrat UPRAC-fournisseur Hawaïen serait respecté par les deux parties et que la réintroduction de sang hawaïen pourrait être réitérée dans des conditions permettant d'exploiter les gènes hawaïens suivant un plan d'action rigoureux. Or cette possibilité (prévue dès le début du projet parce que cruciale) a disparu pour des raisons ne relevant pas de la responsabilité de l'Ifremer, et c'est l'ensemble du transfert à la profession calédonienne qui est remis en question.

La profession risque donc, si elle ne rétablit pas des relations de confiance avec son partenaire hawaïen, de devoir s'interroger sur la façon d'introduire une autre souche (la souche Brunei, déjà introduite au Vanuatu et à Fidji et dont la variabilité est connue a maintenant disparu suite à la présence de WSSV) et de la maintenir dès le début en confinement, en faisant l'hypothèse, réaliste, d'un effet d'hétérosis avec cette autre souche.

4.2. Conservation et exploitation de la diversité génétique disponible

La caractérisation génétique des cheptels complètement transférée

Le transfert technique du génotypage aux trois locus micro-satellites qui avaient été utilisés pour identifier la souche hawaïenne en tant que souche candidate à l'introduction avait été transféré au laboratoire privé Genindexe durant le

projet DESANS. L'utilité de cette démarche a été mise en évidence lorsque, suite aux problèmes liés à IHHNV, la DAVAR et les professionnels calédoniens ont commencé à vouloir caractériser génétiquement les populations élevées dans dif-

férentes fermes et écloséries, en particulier dans le but de ne conserver que la souche calédonienne.

Ce transfert technique à un laboratoire a été complété d'un transfert pédagogique à la profession à travers la rédaction

d'une fiche explicitant les règles d'assignation d'un échantillon donné à telle ou telle population, ainsi que par une séance de formation de l'animateur du GFA à la lecture des tableaux de résultats fournis par Genindexe (Goyard et al, 2009).

Biosécurité : la question du conservatoire prise en main par la profession

Les problèmes rencontrés avec le virus IHHN (cf plus haut) ont fait ressortir l'importance de la mise en place d'un conservatoire de souches, non seulement pour l'hawaïenne (si elle devait être un jour réintroduite dans des conditions la mettant à l'abri de l'IHHNV) mais aussi pour la calédonienne pour la protéger du risque viral, le risque d'introduction accidentelle d'un nouveau virus pathogène en Nouvelle-Calédonie devant être intégré dans le plan de développement de la filière. Cette question, souvent présentée comme fondamentale par l'Ifremer en réunions depuis le début du projet génétique

en Nouvelle-Calédonie mais relevant de choix stratégiques plus que de données scientifiques, est apparue comme prioritaire à l'UPRAC-NC fin 2008 (cf plus haut).

En complément des documents issus de DEDUCTION évoqués plus haut, l'Ifremer a donc participé à de multiples réunions pour aider la profession à formaliser ses besoins en matière de conservatoire. L'ensemble de cette démarche a conduit la filière à rédiger le cahier des charges de la mission d'un expert étranger visant la définition du futur conservatoire dont la filière a besoin.

4.3. Amélioration génétique par sélection

Sélection pour la croissance

La sélection précoce pour la croissance est une opération qui semble d'ores et déjà transférée à la profession malgré l'absence de résultats scientifiques publiables. Il serait cependant souhaitable d'évaluer l'effet réel de cette pratique :

- y-a-t-il une réponse directe sur la taille précoce de post-larves à la génération suivante ?
- y-a-t-il une réponse corrélée sur la croissance jusqu'à

taille commerciale à la génération suivante ?

- ou bien l'effet se limite-t-il à la génération triée, les plus gros animaux en fin de nurserie étant ceux qui auraient eu « plus de chances » dans leur vie précoce et qui bénéficieraient d'un meilleur état de santé pour des raisons non génétiques ?

Sélection sur des critères de résistance

Les résultats obtenus en relation avec l'équipe de Montpellier sont prometteurs et pourraient déboucher sur deux applications principales, à savoir le développement de marqueurs de résistance en sélection, et celui de marqueurs d'évaluation de la santé d'un cheptel donné à un instant donné. Mais leur utilisation nécessiterait d'un point de vue opérationnel soit de mettre au point des kits de mesure colorimétrique de l'expression des peptides d'intérêt ne nécessitant qu'une PCR classique, soit d'utiliser une qPCR à haut débit, ce qui est maintenant envisageable dans le cadre de la plate-forme du vivant. Dans les deux cas, la succession des opérations nécessaires pour la mesure de l'expression de ces gènes d'intérêt (prélèvement, extraction d'ARN, analyse), ne permet pas d'envisa-

ger une mesure instantanée «au bord du bassin» : il faudra en effet environ 2 jours entre le prélèvement et le résultat. Ces contraintes seront à prendre en compte d'un point de vue logistique pour une application en sélection.

Sous l'hypothèse de la stabilité dans le temps de l'expression des gènes codant pour les peptides antimicrobiens d'intérêt, qui reste à vérifier à partir des échantillons déjà prélevés, la condition préalable qui devra être étudiée pour aller plus loin en matière de sélection selon ces critères sera d'étudier leur héritabilité, a priori grâce à une sélection divergente expérimentale qui s'étend nécessairement sur plusieurs générations. Mais la question de l'opportunité de lancer un tel programme est étroitement liée au paragraphe suivant.

Quels acteurs?

Le plan initial prévoyait à court-moyen terme la mise en place d'une structure d'exploitation de l'effet d'hétérosis entre souches, et à moyen-long terme les recherches sur la possibilité d'une sélection à partir d'une population composite qui aurait été constituée de façon raisonnée et contrôlée à partir des 2 souches disponibles. La première étape envisagée (l'amélioration par croisement), conceptuellement simple, devait permettre à la profession de s'organiser et d'évoluer pour intégrer une démarche génétique à ses cycles de production. La complexité plus importante de la seconde étape impose

de s'interroger sur l'opportunité de démarrer cette seconde phase alors que la première n'est pas transférée pour des raisons autres que scientifiques.

En d'autres termes, il semble raisonnable de s'assurer de la capacité de la profession à s'organiser pour rendre possible le transfert, conceptuellement simple, des acquis scientifiques dans le domaine du croisement avant d'envisager des recherches dont les résultats nécessiteront pour leur transfert une mise en œuvre plus complexe.

5. Références bibliographiques

- Anonyme - Laboratoire d'Aquaculture de Tahiti, Laboratoire Aquacole de Calédonie, Laboratoire de Génétique et Pathologie, Direction du Département Ressources Aquacoles (Avril 2002). Gestion de la variabilité génétique de la souche de crevettes *Litopenaeus stylirostris* de Nouvelle-Calédonie : Analyse de la variabilité génétique résiduelle, et examen des différentes possibilités d'introduction de sang neuf. Recommandations d'IFREMER ; 17 p.
- Collectif DAC 2007. Contribution de l'Ifremer au rapport final du GFA sur les expérimentations dites de « sortie de crise » menées sur la ferme AIGUE-MARINE durant la saison 2006 / 2007. Rapport d'avancement rédigé dans le cadre du contrat Ifremer-nc/2006-426. Ifremer/DAC/RC 2007-01, 49 pp.
- De Lorgeril, J. 2005a. Expression de gènes immunitaires et capacité de survie de la crevette *Litopenaeus stylirostris* au pathogène *Vibrio penaeicida*. Thèse Université de Montpellier II. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. 140 pages + annexes.
- De Lorgeril, J., Saulnier, D., Janech, M.G., Gueguen, Y., Bachere, E. 2005b. Identification of genes that are differentially expressed in hemocytes of the Pacific blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) surviving an infection with *Vibrio penaeicida*. *Physiol. Genomics* 21, 174–183.
- De Lorgeril, J., Gueguen, Y., Goarant, C., Goyard, E., Mugnier, C., Fievet, J., Piquemal, D., Bachère, E. 2008. A relationship between antimicrobial peptide gene expression and capacity of a selected shrimp line to survive a *Vibrio* infection. *Molecular Microbiology*, 45, 3438-3445.
- Goyard E., Arnaud, S., Vonau, V., Pham, D., Boudry, P., Aquacop 2002. Ressources génétiques de la population de crevettes *Litopenaeus stylirostris* domestiquée en Nouvelle-Calédonie: définition d'une stratégie de ré-introduction de la variabilité. 4ème Colloque national du Bureau des Ressources Génétiques. 14-16 octobre 2002. La Châtre, France. Poster.
- Goyard E., Arnaud, S., Vonau, V., Bishoff, V., Mouchel, O., Pham, D., Wyban, J., Boudry P., Aquacop 2003. Residual genetic variability in domesticated populations of the Pacific blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) of New Caledonia, French Polynesia and Hawaii and some management recommendations. *Aquatic Living Resources* 16, 501–508.
- Goyard, E., Ansquer, D., Brun, P., de Decker, S., Dufour, R., Goarant, C., Patrois, J., Peignon, J.-M., Pham, D. 2005. Amélioration génétique pour la résistance au Syndrome 93 : bilan de 5 générations de sélection expérimentale Ifremer/DAC/Fiche Bio. 2005-03
- Goyard, E., Ansquer, D., Brun, P., De Decker, S., Dufour, R., Peignon, J.-M., Patrois, J., Pham, D., Harache, Y. 2006. Introduction of genetic variability among the New Caledonian domesticated broodstock of Pacific blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*: First results. World Aquaculture Society AQUA 2006, May 9-13, 2006 Firenze, Italy, Communication orale.
- Goyard, E., Goarant, C., Ansquer, D., Broutoi, F., Brun, P., de Decker, S., Dufour, R., Galinié, C., Mailliez, J.-R., Peignon, J.-M., Pham, D., Vourey, E., Harache, Y., Patrois, J. 2007. Bilan de deux années de testage de performances des crevettes de types génétiques «Calédoniennes», «Hawaïennes» et «Métisses». Ifremer/DAC/Fiche Bio 2007-06.
- Goyard, E., Goarant C., Ansquer D., Broutoi F., Brun P., de Decker S., Dufour, R., Galinié, C., Mailliez, J.-R., Peignon, J.-M., Pham, D., Vourey, E., Harache, Y., Patrois, J. 2007. Introduction in New Caledonia of a population of *Litopenaeus stylirostris* domesticated in Hawaii : Report on reproduction performances of the Hawaiian population reared in New Caledonia after 2 years of testing. Ifremer/DAC/RC 2007-02, 9 pp.
- Goyard, E., Goarant, C., Ansquer, D., Broutoi, F., Brun, P., de Decker, S., Dufour, R., Galinié, C., Mailliez, J.-R., Peignon, J.-M., Pham, D., Vourey, E., Harache, Y., Patrois, J. 2007. Introduction en Nouvelle-Calédonie de la souche de crevette *Litopenaeus stylirostris* domestiquée à Hawaii : Bilan de l'opération après deux années de testage de performances des crevettes de types génétiques « Calédoniennes», « Hawaïennes » et « Hybrides ». Ifremer/DAC/RST 2007-01, 48 pp.
- Goyard, E., Goarant, C., Ansquer, D., Broutoi, F., Brun, P., de Decker, S., Dufour, R., Galinié, C., Mailliez, J.-R., Peignon, J.-M., Pham, D., Vourey, E., Patrois, J., Harache, Y. 2008. A case study of R & D for small isolated aquaculture industries : Genetic management of the domesticated *Litopenaeus stylirostris* shrimp population of New Caledonia. *Aquaculture Europe*, 33, 5-11.
- Goyard, E., Goarant, C., Ansquer, D., Brun, P., de Decker, S., Dufour, R., Galinié, C., Peignon, J.-M., Pham, D., Vourey, E., Harache, Y., Patrois, J. 2008. Cross breeding of different domesticated lines as a simple way for genetic improvement in small aquaculture industries: Heterosis and inbreeding effects on growth and survival rates of the Pacific blue shrimp *Litopenaeus (Penaeus) stylirostris*. *Aquaculture*, 278, 43-50.
- Goyard, E., Goarant, C., Ansquer, D., Broutoi, F., Brun, P., de Decker, S., Dufour, R., Galinié, C., Mailliez, J.-R., Peignon, J.-M., Pham, D., Vourey, E., Patrois, J., Harache, Y. 2008. Disease challenge studies of inbred and outbred shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) in New Caledonia. *Aquaculture Health International*, 13, 28-31.
- Goyard, E., Baron, S. 2009. Le génotypage comme outil de reconnaissance de souches de crevettes *L. stylirostris*. Ifremer/LEAD/Fiche Bio 2009-01.
- Goyard, E., Ansquer, D., Broutoi, F., Brun, P., Dufour, R., Mailliez, J.-R., Peignon, J.-M., Pham, D., Vourey, E., Walling, E., Patrois, J. 2009. Résistance spécifique à *V. penaeicida* des crevettes « Métisses » issues du croisement de première généra-

tion des types génétiques «Calédonie» et «Hawaii». Ifremer/LEAD/Fiche Bio 2009-02.

Goyard, E., Broutoi, F., Brun, P., Dufour, R., Mailliez, J-R., Peignon, J-M., Pham, D., Vourey, E., Walling, E., Patrois, J. 2009. Reproduction comparée des crevettes *L. stylirostris* de types génétiques «Calédonie» et «Hawaii». Ifremer/LEAD/Fiche Bio 2009-03.

Gueguen, Y., Garnier, J., Robert L., Lefranc, M-P., Mougnot, I., de Lorgeril, J., Janech, M., Gross, P., Warr, G., Cuthbertson, B., Barracco, M., Bulet, P., Aumelas, A., Yang, Y., Bo, D., Xiang, J., Tassanakajon, A., Piquemal, D., Bachère, E. 2006. PenBase, the shrimp antimicrobial peptide penaeidin database : Sequence-based classification and recommended nomenclature. *Developmental and Comparative Immunology* 30, 283–288.

Patrois, J., Bador, R., Goarant, C., Goyard, E., Primot, P., Harache, Y. 2006. Introduction of genetic variability among the new caledoniçan domesticated broodstock of Pacific Blue Shrimp *Litopenaeus stylirostris* : the quarantine phase. *World Aquaculture Society AQUA 2006, May 9-13, 2006 Firenze, Italy, Communication orale.*

Patrois, J., Goarant, C., Goyard, E., Harache, Y., Primot, P., Bador, R. 2007. Blue shrimp quarantined in New Caledonia.

Genetic variability program. *Global Aquaculture Advocate* 10(5), 90-92.

Patrois, J., Goyard, E., Peignon, J-M., Dufour, R., Ansquer, D. 2007. Sécurisation des souches de crevettes d'élevage en Nouvelle-Calédonie : Résultats de la quarantaine et du conservatoire expérimental et éléments pour la définition d'une stratégie de sécurisation des souches de crevettes en Nouvelle-Calédonie. Ifremer/DAC/RST. 2007-02, 43 pp.

Peignon, J-M., Broutoi, F., Dufour, R., Mailliez, J.R., Patrois, J., Pham, D., Goyard, E. 2006. Normes d'élevage en bacs 500-1600 litres pour les phases de nurserie et de prégrossissement chez *L. stylirostris*. Détermination de la progression journalière de la ration. Ifremer/DAC/Fiche Bio. 2006-02.

Peignon, J-M., Dufour, R., Morvan, P., Goyard, E. 2009. Marquage individuel de crevettes par bagues oculaires : une technique simple et utile pour la sélection de géniteurs. Ifremer/LEAD/Fiche Bio 2009-04.

Primot, P., Herlin, J. 2006. Suivi sanitaire de la filière par Ifremer et la DAVAR. Atelier de bilan et synthèse des travaux de recherche aquacole, 29 juin 2006, Nouméa.



Suivi des élevages et observation de la filière

1. Veille clinique

Dans le cadre de ses travaux de recherche sur les épisodes de mortalités anormales, en particulier de type vibrioses impliquées dans les « syndromes d'hiver » et « syndrome d'été », l'IFREMER souhaitait pouvoir disposer d'un moyen de suivi, de collectes de données, ainsi que des souches bactériennes d'intérêt (*V. penaeicida* et *V. nigripulchritudo*). C'est ainsi qu'il s'est associé depuis 2002 au sein du Réseau d'Epidémiologie Crevette (REC) avec la DAVAR qui souhaitait bénéficier

d'un appui de terrain pour ses propres missions (certification du statut sanitaire de la Nouvelle-Calédonie au regard des exportations de crevettes et assurer un diagnostic précoce des Maladies Réputées Contagieuses pour la mise en place des opérations de police sanitaire), et avec les aquaculteurs, intéressés par la prestation de diagnostic lors de problèmes sanitaires et/ou zootechniques.

1.1. Rappel du fonctionnement de la veille clinique (2007-2010)

Une veille clinique se définit comme « l'action consistant à assurer auprès de la filière la collecte d'informations sanitaires et à intervenir auprès des sites d'élevages lors d'apparition de foyers de mortalités ou de maladies » (OIE). Elle est assurée au sein du REC par l'équipe IFREMER-Veille clinique qui agit en tant qu'interlocuteur central, et coordonne les différents moyens susceptibles de déterminer les causes de mortalité (Figure 47). Ceci inclut la collecte de données environnementales et zootechniques de l'élevage affecté et le prélèvement d'échantillons si des analyses se justifient. Ces dernières font l'objet d'une spécialisation des tâches entre l'IFREMER (bactériologie), et le LNC/DAVAR (histologie et biologie moléculaire). Un rapport synthétique est ensuite transmis au SIVAP/DAVAR, qui coordonne le REC, puis à l'aquaculteur concerné. Des synthèses de l'activité et des résultats du REC sont par ailleurs transmises à la filière trimestriellement et un bilan est établi à la fin de chaque saison de production.

Ce document s'attache à présenter les résultats de veille clinique dans le cadre du REC de façon globale et de dégager des tendances générales. Nous encourageons le lecteur à se reporter aux résultats plus étendus du REC pour information et détails complémentaires.

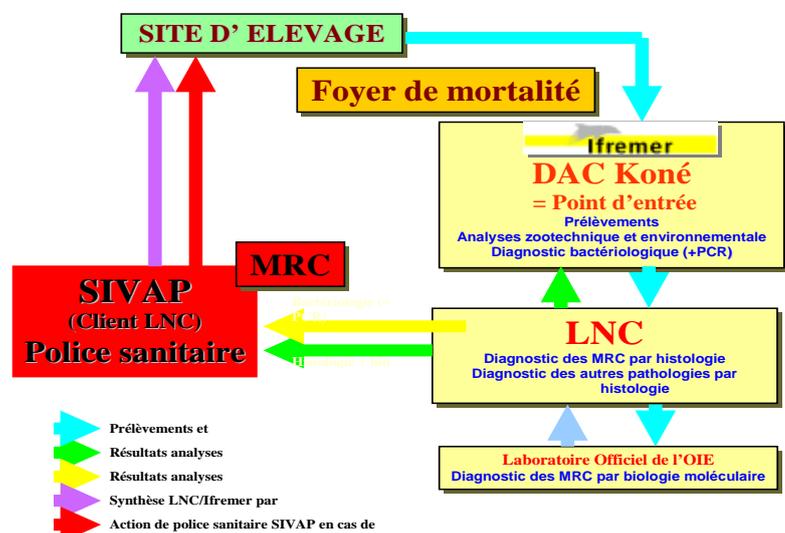


Figure 47 : Schéma de fonctionnement du REC sur la période 2007-2010

1.2. Résultats

Dans le cadre de DEDUCTION, la veille clinique proposait de poursuivre et d'assurer de façon satisfaisante le fonctionnement standard de la prise en charge des épisodes de mortalité. D'autre part, elle s'est attachée à améliorer le traitement des épisodes de mortalités sur les exploitations en sensibilisant les professionnels à la déclaration, et à la prise d'échantillons (formations). Le lien entre la veille clinique et la base de données a été développé à travers un module « Veille Clinique », avec l'idée de pouvoir associer chaque épisode de mortalité archivé dans Stylog à un résultat de diagnostic précis, permettant d'optimiser la phase de traitement des données sur les conditions d'apparition de ces mortalités et un retour plus rapide de l'information.

La filière géniteurs

On constate (Figure 48) une augmentation des interventions sur la campagne de production 2008-2009, qui correspond à une réaction des écloséries vis-à-vis de l'épisode IHHN. Ils ont ainsi fait tester leurs géniteurs pour l'IHNV après l'éradication du cheptel hawaïen trop sensible à ce virus, et générant un risque de dissémination d'une partie de son patrimoine génétique par croisement dans les lots commerciaux. Il est à préciser que beaucoup des cas enregistrés le sont à la fois dans les cas « privés », et « REC » (et donc non cumulables). Les cas de mortalités de géniteurs ont été globalement peu nombreux et ont principalement impliqué la présence d'IHNV, d'entérites hémocytaires et d'hépatopancréatites. Les cas « Maladies » et « Autres » ont été également associés à l'IHNV, respectivement (mais avec des exceptions) en cas de détection du virus (Maladies), ou pour archiver une simple intervention de contrôle du chep-

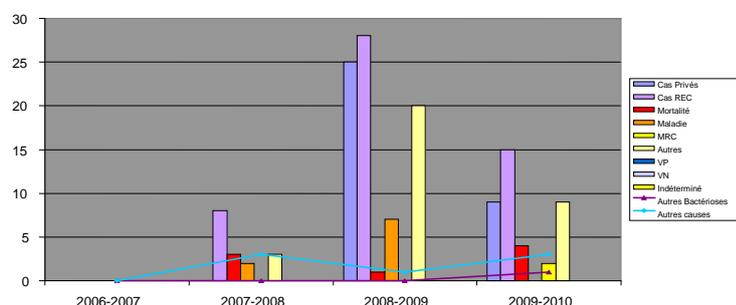


Figure 48 : Répartition des types d'intervention (histogrammes) et des causes présumées de mortalités (courbes) des campagnes de production 2006-2007 à 2009-2010 de géniteurs

tel (Autres). Leur augmentation significative en 2008-2009 a donc traduit la volonté d'établir le statut sanitaire des lots de géniteurs vis-à-vis de l'IHNV.

A ce jour, aucune souche bactérienne n'a été isolée du compartiment « géniteurs ».

La filière éclosion (larves)

Comme pour la filière géniteurs, le nombre d'interventions pour les élevages larvaires/nurseries augmente sensiblement sur la saison 2008-2009 (Figure 49), et particulièrement les cas « privés », là aussi en lien avec la volonté cette fois d'une seule éclosion d'effectuer des contrôles IHNV de ces élevages larvaires. Sans cela, le nombre de cas enregistrés aurait été sensiblement le même sur les quatre campagnes, de même

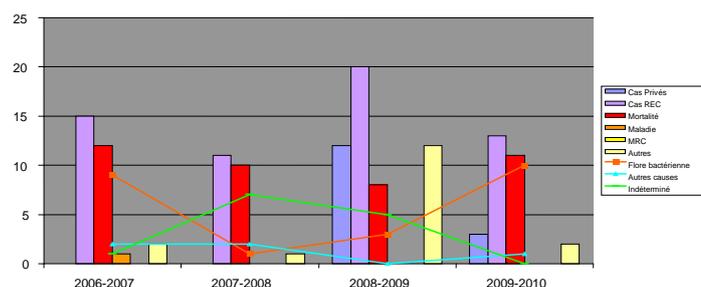


Figure 49 : Répartition des types d'intervention (histogrammes) et des causes de mortalités (courbes) des campagnes de production 2006-2007 à 2009-2010 des écloséries

que ceux des mortalités. Parmi ces dernières les implications bactériennes ont été importantes en 2006-2007 et 2009-2010, et cela a aussi pu être le cas en 2007-2008 où la détermination des causes de mortalité aura été particulièrement difficile.

On retiendra de façon générale que les diagnostics sont peu robustes sur ce compartiment, et que même lorsqu'une relation bactérienne est évoquée (bactéries détectées, observées et isolées), elle ne parvient pas à pointer une espèce pathogène de façon précise et avec certitude. De plus, les souches bactériennes suspectes ne sont pas testées pour leur pathogénicité, et sont parfois aussi présentes dans des bacs « témoins sains ». C'est pourquoi une cause plus vraisemblable est probablement celle d'un déséquilibre de la flore bactérienne. A ce jour (fin de saison 2009-2010), 28 souches bactériennes ont été isolées du compartiment écloséries/larves, dont 12 présumées de *Vibrio* sp (*dam-sela*, *costicola*, *splendidus*,...), et 16 souches non identifiées d'autres espèces bactériennes.

La filière fermes (bassins)

Là encore on note un nombre de cas « privés » plus important sur la saison 2008-2009, qui correspond à la période de « prise de conscience » de contrôler l'IHHNV dans la filière (Figure 50). Le nombre de cas « Maladie » reste sensiblement le même pour les 3 premières saisons et concerne principalement des cas d'entérites hémocytaires au cours de la saison 2006-2007, puis s'oriente sur des cas séparés ou mixtes « entérites/IHHNV » au cours des trois saisons suivantes. Pour la saison 2009-2010, la DAVAR avait signifié aux aquaculteurs que la prise en charge des détections IHHNV devenait trop importante techniquement et financièrement, et que la profession devait s'orienter sur plus d'auto-contrôle privé, et c'est pourquoi le nombre de cas reportés en « Maladie » a diminué.

En tête des causes de mortalités, on trouve le couple « *V. penaeicida* / *V. nigripulchritudo* » qui globalement enregistre une augmentation du nombre de cas reportés pour le premier et une baisse pour le second au cours des quatre saisons de production. On notera qu'au cours de la saison 2009-2010, sur les 14 cas impliquant ces vibrios, 4 les font apparaître ensemble sur le même épisode de mortalité, avec toutefois une prédominance de l'un ou de l'autre.

Pour les autres causes de mortalité, on constate pour la plupart d'entre elles la présence d'entérites, et/ou d'IHHNV à portage élevé.

A ce jour, 116 souches bactériennes ont été isolées du compartiments « fermes » : 34 souches présumées (5) ou confirmées (29) de *V. penaeicida*, 65 souches présumées (32) ou confirmées (33) de *V. nigripulchritudo*. 17 souches d'autres espèces bactériennes ont été isolées du compartiment « Fermes », dont 6 présumés de *Vibrio* sp (*V. splendidus*, *V. harveyi*), et 11 souches non identifiées d'autres espèces bactériennes.

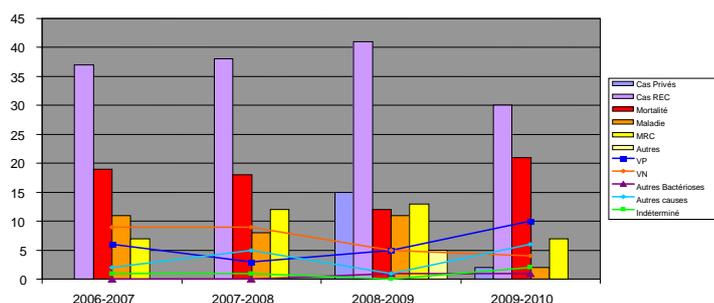


Figure 50 : Répartition des types d'intervention (histogrammes) et des causes de mortalités (courbes) des campagnes de production 2006-2007 à 2009-2010 des fermes

1.3. Retombées éventuelles pour la filière et perspectives

L'Ifremer a fait part lors du Comité Mixte de mars 2010 de son souhait de ne plus assurer la veille clinique du REC après décembre 2010. Néanmoins, conscient de l'intérêt de cet outil dans l'organisation en place, il a néanmoins encouragé sa poursuite et proposé d'accompagner la structure/équipe qui lui succéderait dans cette tâche, et qui pourrait être intégré à un Centre Technique Aquacole en cours de montage.

Il est à noter qu'au-delà de la filière crevette, le REC sert d'exemple pour la constitution du réseau d'épidémiologie de la filière apicole (filiale à volonté exportatrice, avec en coordinateur le SIVAP, en maillon terrain le centre de production apicole et en laboratoire le LNC).

Lors d'une réunion extraordinaire du REC le 17 août 2010 les partenaires du REC (Ifremer, Davar) et les collectivités (Gou-

vernement, Province Sud, Province Nord) ont reconnu et salué le bon fonctionnement du réseau et l'importance de le conserver. Il a donc été demandé à Ifremer d'assurer la continuité de la veille clinique pour la campagne 2010-2011, et d'y intégrer pleinement le GFA. Ce dernier devient destinataire des résultats individuels d'analyse de ses membres, après leur accord, et complètera grâce au transfert réussi de la base Stylog de l'Ifremer (devenue StyliBase), les analyses du LNC et de l'IFREMER par une analyse zootechnique à destination de l'éleveur concerné. L'IFREMER a donc accepté de poursuivre pour la saison 2010-2011, la prestation d'analyse bactériologique permettant de confirmer les vibrioses à *V. penaeicida* et *V. nigripulchritudo*, et de l'inscrire dans la fiche « Soutien technique » du programme 2011.

2. Base de données : administration, évolution et maintenance de la base STYLOG

2.1. Historique et rappel des enjeux

Au cours du programme de recherche DESANS, l'IFREMER a mis en place différents outils ayant pour objectifs de structurer, archiver et sécuriser les données de la filière crevette néo-calédonienne. Cette suite logicielle développée sous Microsoft Access®, nommée Stylog comprend :

- un module ferme (Figure 51) permettant aux aqua-



Figure 51 : Stylog-module ferme, archivage des données d'élevage et restitution graphique

culteurs de banqueriser leurs données et de les utiliser dans la gestion quotidienne de leurs élevages ;

- un module veille-clinique permettant à l'équipe en charge du REC de se connecter aux différents modules fermes afin d'en extraire les données nécessaires à la réalisation de diagnostics, d'éditer puis d'archiver les comptes-rendus d'interventions ;
- un module administrateur permettant d'archiver les

demandes d'évolutions sur les différents modules ou anomalies constatées par les utilisateurs, ainsi que les interventions sur les fermes, les versions installées sur les différents postes.

Le module ferme a permis au cours du programme DESANS de collecter plus de 2 millions de données provenant de plus de 250 élevages de la filière.

2.2. Démarche

Début 2008, l'IFREMER a mandaté A. Huguet et C. Bonnet, responsables du programme Quadrige² en métropole, pour auditer la base de données stylog. Leurs conclusions furent les suivantes :

- il est nécessaire de maintenir l'outil en condition opérationnelle et de le faire évoluer afin de le rendre plus attractif et d'augmenter sa valeur ajoutée ;
- compte tenu des données stockées, il est nécessaire de finaliser les conventions de mise à disposition et de confidentialité avec les propriétaires de données ;
- le système doit être sécurisé et s'ouvrir vers des outils de diffusion / valorisation ;
- il est indispensable de mettre en place une structure projet afin de formaliser les développements et demandes d'évolution.

Afin de répondre aux points 1 et 2, un comité des utilisateurs a été créé et plusieurs projets de conventions de confidentialité

ont été rédigés sans aboutir à un réel consensus. Néanmoins, l'intérêt de l'outil étant reconnu au niveau de la filière, les producteurs ont décidé de continuer à investir dans le projet en recrutant une personne ressource pour faire l'interface entre les utilisateurs et l'administrateur Ifremer - l'objectif, à terme, étant de pouvoir gérer la base de données au sein de la filière afin de s'affranchir des problèmes de confidentialité.

La sécurisation du système a débuté pendant l'audit et s'est poursuivie au cours du programme DEDUCTION avec la normalisation du modèle physique de données (Figure 52). L'objectif de ce travail était d'optimiser l'archivage des données sur le long terme et une partie du MPD (périmètre résultats de mesures), reprise de l'architecture Quadrige², pourrait permettre à terme de favoriser l'interopérabilité des deux systèmes ou d'utiliser des outils de valorisation Ifremer, type SURVAL. Un nouveau système de gestion de base de données, plus robuste (PostgreSQL) et facilitant la mise en réseau, a été choisi pour centraliser l'ensemble des données collectées sur les sites d'élevage à l'aide du module ferme.

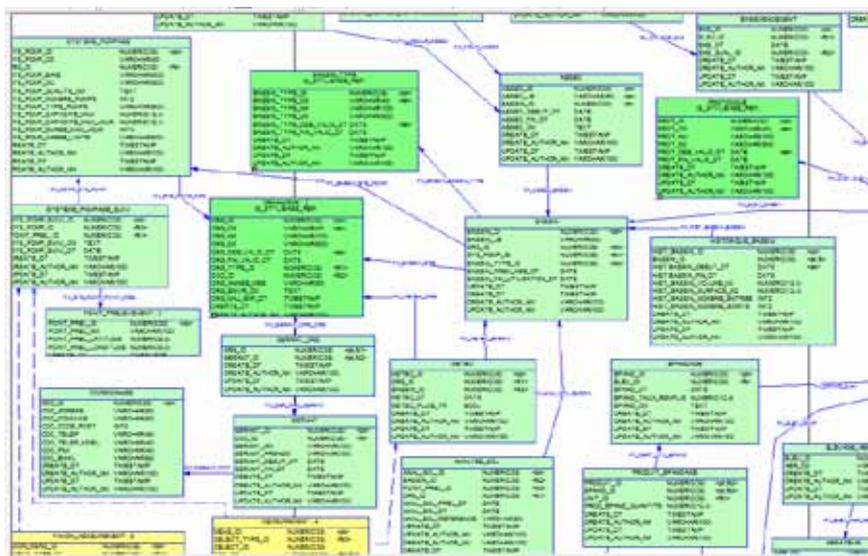


Figure 52 : Aperçu du modèle physique de données (MPD) de la base centrale

En outre, l'utilisation du portail GForge Ifremer a permis de remplacer le module administrateur pour la gestion du projet, par différents outils de travail collaboratif, accessibles en extranet par les différents intervenants:

- partage de sources et suivi de version (SVN) associé au logiciel Eclipse;
- gestion de documentation;

- gestion des demandes d'évolutions et anomalies – Mantis (Figure 53).

L'organisation du projet (Figure 54) et la répartition des fonctions entre l'administrateur Ifremer et le responsable du projet au sein du GFA, ont donc progressivement évolué au cours du programme DEDUCTION tendant à une gestion globale des données et des outils par le GFA.

ID	Catégorie	Statut	File à jour	Date soumise	Contrat	Champs (1/1)	Étiquettes	Versions du produit
1000001	à déterminer	nouveau	André (Demandeur)	12-03-08			graph - problèmes de rafraichissement des bases d'ordonnées (mezzan)	VS.1
1000002	Sty_Saisie_Donnees	nouveau	André (Demandeur)	11-03-08			Saisie Température : ajout nouveau de saisie pour l'heure de mesure	VS.1
1000003	Sty_Saisie_Donnees	nouveau	André (Demandeur)	10-03-08			Graphique - Graph combiné - boîte de dialogue - message erroné	VS.1
1000004	à déterminer	complet	André (Demandeur)	10-03-08			Général - zone de saisie au format erroné	VS.1
1000005	à déterminer	nouveau	André (Demandeur)	10-03-08			ajout Champ (C0242)_ST dans table_saisie	VS.1
1000006	Sty_Saisie_Donnees	nouveau	André (Demandeur)	10-03-08			Formulaires saisie -> 1007_1001_0101	VS.1
1000007	Sty_Saisie_Donnees	nouveau	André (Demandeur)	10-03-08			paramètres d'élevage - visualisation d'un élevage et 1001 sur les form_saisie	VS.1
1000008	Sty_Saisie_Donnees	nouveau	André (Demandeur)	10-03-08			paramètres d'élevage - visualisation d'un élevage et 1001 sur les form_saisie	VS.2
1000009	Evnt_MCR	nouveau	André (Demandeur)	09-03-08			graph - composition d'élevage pré-élevage - sans séquence d'élevage	VS.1
1000010	Evnt_MCR	nouveau	André (Demandeur)	09-03-08			Graph general - distribution en dents de scie et courbe de tendance	VS.1

Figure 53 : Gestion des demandes d'évolution et anomalies à l'aide de Mantis

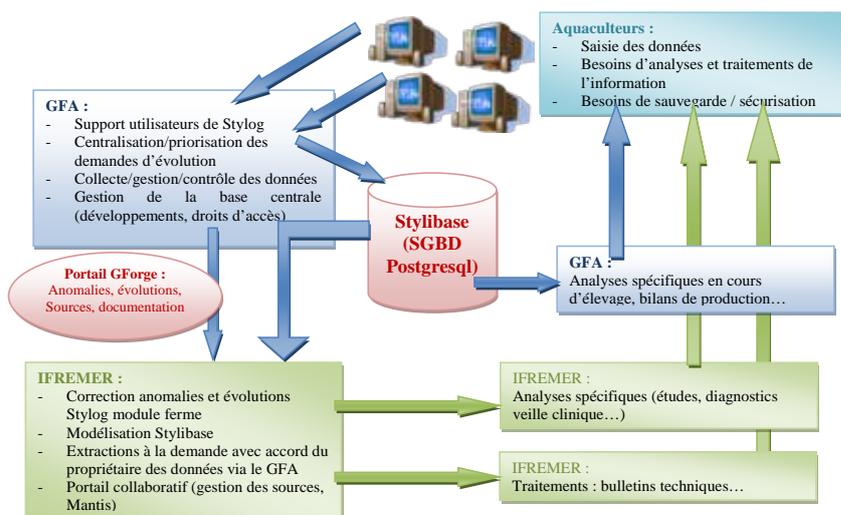


Figure 54 : Nouvelle organisation du projet Stylog

2.3. Résultats

La gestion du projet de base de données Stylog a été transférée au GFA avec la livraison de la version 7.0 du module ferme et la modélisation de la base centrale Stylibase. Cette dernière étant installée sur un serveur du groupement et gérée en interne, les problèmes de confidentialité entre la profession et l'Ifremer ont été résolus. Aujourd'hui, l'ensemble des membres du GFA utilisent le module ferme permettant d'alimenter la base centrale, d'éditer des synthèses de production de la filière, et de réaliser des comparaisons d'élevages en

cours de campagne...

Un soutien technique au nouvel administrateur du projet est prévu en 2011 afin de l'accompagner dans d'éventuels développements sur le module ferme ou pour des besoins ponctuels de modélisation de la base centrale. La fourniture d'une documentation technique complète du module ferme ainsi que du dictionnaire de données stylibase début 2011 achèvera le transfert de l'outil à la profession.

3. Exploitation des données de STYLOG

3.1. Historique et rappel des enjeux

La filière crevette calédonienne a été victime de deux types de maladies entraînant des phases de mortalité : le « syndrome d'hiver » (ou « syndrome 93 »), et le « syndrome d'été », toutes deux liés à des bactéries du genre *Vibrio* (*V. penaeicida* et *V. nigripulchritudo*) (Goarant et al, 2004a et b ; 2006).

L'observation des données d'élevage a permis d'aider à déterminer quels étaient les facteurs impliqués dans l'apparition de ces phénomènes. La bancaisation des données zootechniques et environnementales récoltées au cours d'un élevage pourrait ainsi conduire à une meilleure compréhension de ces phénomènes,

ainsi qu'à l'optimisation de la production par une meilleure prise en compte des paramètres environnementaux.

D'un projet initial de base de données est né un véritable outil de gestion de fermes aquacoles, nommé Stylog, permettant à la fois l'archivage et la mise en forme des données (graphiques, synthèses des pêches, prévisionnels et résumés d'élevage...). (Souillard, 2008)

L'information ainsi collectée se doit d'être synthétisée et analysée pour une meilleure compréhension des élevages passés et une meilleure gestion des élevages futurs.

3.2. Démarche

Compte tenu du système de stockage, du volume de données à traiter et de l'apport régulier de nouvelles données il est apparu nécessaire que le traitement de l'information soit le plus automatisé possible.

Toutes les analyses ou synthèses de données contenues dans Stylog sont effectuées par des programmes en R effectuant eux même l'extraction.

Les données stylog ont été valorisées de trois façons différentes et complémentaires :

- Le programme BUTSTY permet d'éditer des bulletins techniques d'élevage par ferme qui réalisent des

synthèses des données d'élevages, présentées sous forme de tableaux et de graphiques. Les figures ainsi générées permettent une meilleure compréhension du déroulement de chaque élevage.

- Le programme LOSTY permet de générer des fichiers de données, importables dans stylog afin d'y visualiser les élevages de référence des bulletins techniques.
- des analyses statistiques tentant de mieux appréhender le fonctionnement de l'écosystème bassins et ainsi faire progresser les connaissances et la zootechnie.

3.3. Résultats

Synthèse des données STYLOG

Les documents de synthèses de données d'élevages nommés bulletins techniques d'élevages (BTE) sont édités par fermes et par campagne de production.

Dans chacune des figures les données des élevages étudiés sont comparées à celles des élevages de références, choisis par l'éleveur.

Le travail réalisé par Julie Frappier (VCAT Ifremer), a tout d'abord permis de définir le contenu des BTE et de concevoir le programme d'édition semi-automatique.

La première version du BTE contenait un tableau récapitulant la surface et l'âge de chaque bassin ainsi qu'une photo, puis pour chaque saison d'ensemencement :

- Un tableau présentant les conditions d'ensemencement, d'alimentation, d'aération et les performances des élevages de références;
- Un tableau présentant les données globales de l'élevage : préparation du bassin, ensemencement et résultats d'élevages;
- Un tableau présentant les conditions de production pour les 100 premiers jours et pour l'ensemble de la durée de l'élevage;
- Pour chaque élevage : un ensemble de graphiques montrant l'évolution des conditions d'élevages, de la distribution alimentaire et du poids moyen, comparé aux données des élevages de références.

Par la suite, Yannick Ramage (VCAT Ifremer) a pu approfondir le travail de Julie Frappier sur le programme éditant les bulletins techniques, désormais appelé BUTSTY (Bulletin Technique d'Elevage STYlog). Ces améliorations visaient à faciliter et à pérenniser l'édition des BTE et à l'ajout de nouvelles fonctionnalités

- Ajout de la section « graphiques par bassins » complétant la section « graphiques par élevages » déjà existante dans les bulletins techniques. Ces graphiques présentes très succinctement l'évolution des conditions d'élevages, de la distribution d'aliment et des performances au fil des élevages par bassin.
- Possibilité d'éditer des bulletins techniques présentant les données de toutes les campagnes de production d'une même ferme, par bassin. Ces bulletins sont appelés bulletins rétrospectifs d'élevages et présentent les historiques STYLOG d'une ferme.

Durant les campagnes 2007-2008 et 2008-2009, 12 BTE et 6 BRE ont été édités et envoyés aux exploitants leur permettant d'évaluer la conduite de leurs élevages au travers de différents indicateurs de performance. Pour améliorer leur réactivité, ils ont par ailleurs demandé à pouvoir comparer les élevages en cours, aux élevages de références. Ainsi, Stylog a été modifié de façon à pouvoir importer, stocker et afficher les courbes de tendances des élevages de références issus du programme dédié LOSTY (LOess STYlog).

Analyse des données STYLOG

La prévention des phases de mortalité et l'obtention de meilleures performances en production passe nécessairement par la compréhension du fonctionnement de l'écosystème bassin. Les données Stylog ont été statistiquement analysées afin d'identifier les interactions aux cours des élevages.

Dans le rapport « Premières approches pour l'analyse des données d'élevages de crevettes marines en Nouvelle Calédonie » (Frappier et al., 2008), les corrélations entre paramètres d'élevages et indice de performances ont été étudiées. Cette analyse a porté sur près de 200 élevages de 1992 à 2007 et a permis de mettre en évidence :

- de très grandes différences liées aux saisons d'ensemencement;
- un effet ferme important;
- une corrélation positive entre les écarts de concentrations en oxygène journalier et les performances pour les plus grandes fermes;
- l'hétérogénéité des mesures de secchi, pouvant être le fait de multiples protocoles de mesure.

Cette première étude a ouvert la voie à une deuxième analyse, intitulée « Détermination d'indicateurs de performance des élevages de crevettes en Nouvelle-Calédonie » (Ramage et al.,

2011), qui regroupe deux analyses.

La première, utilisant le random forest, (utilisant des arbres de décision, Figure 55) a permis d'identifier trois indicateurs de bonnes performances :

- une forte consommation en aliment ;
- une forte production et consommation en oxygène ;
- des températures modérément élevées et plus stables (excepté dans le cas des élevages ensemencés en octobre, novembre ou décembre où les variations rencontrées doivent être positivement contrebalancées par l'élévation globale de température (« printemps » vs. été).

Les indicateurs relatifs à l'aliment et à l'oxygène montrent que les « mauvais » élevages sont plus intensifiés, produisent plus de déchets et que les animaux subissent régulièrement des stress hypoxiques. Selon la synthèse DéSanS (Herbland & Harache, 2008), ces conditions aboutissent à une dégradation de l'environnement « bassin » et une susceptibilité aux pathogènes accrue. Il serait donc judicieux d'adopter des pratiques moins intensives ou de revoir les équipements de façon à accroître les capacités d'accueil et d'épuration des structures d'élevages.

La deuxième partie de l'analyse, étudiant les stratégies d'ajustement de la ration via une méthode graphique, a pu mettre en évidence les relations entre ration distribuée et performance pour les fermes étudiées :

- Pour les fermes ayant trois saisons d'ensemencement, dans la plupart des cas, l'ajustement de la ration est entièrement expliqué par le poids moyen, et ne tient pas compte du nombre d'animaux (Figure 56) ;
- Pour les fermes n'ayant que des élevages ensemencés en octobre novembre et décembre, il n'y a pas de corrélation entre la ration distribuée et la productivité et la corrélation entre ration et conversion alimentaire est souvent négative (Figure 57).

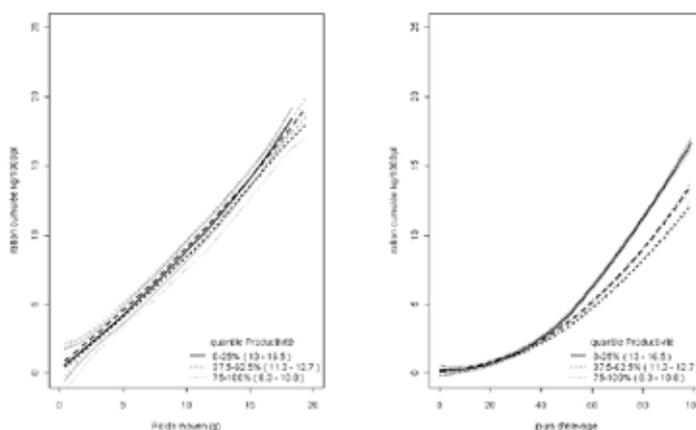
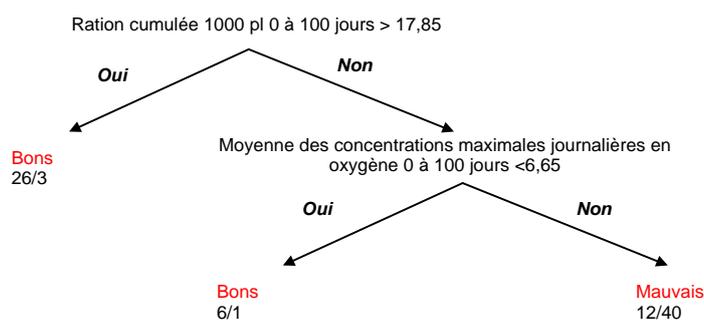


Figure 56 : Exemple d'ajustement de la ration intégralement expliqué par le poids moyen

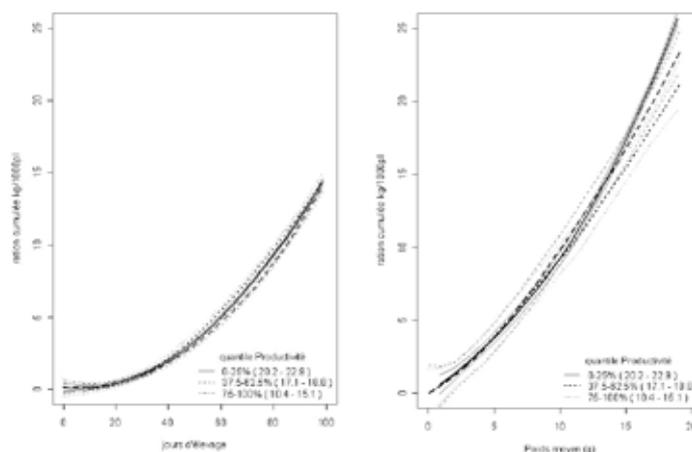


Figure 57 : Exemple d'ajustement de la ration sans corrélation avec les performances. L'identification de ces deux voies d'ajustement de la ration met en évidence le besoin d'amélioration du protocole d'utilisation ou d'interprétation des mangeoires

Transfert et perspectives

BUTSTY et LOSTY sont opérationnels et d'ores et déjà transférés au GFA (Groupement des Fermes Aquacoles) qui sera en charge de l'édition des BRE et BTE ainsi que des élevages référents, qui permettent l'édition des courbes de références dans STYLOG.

Le rapport intitulé « Détermination d'indicateurs de performance des élevages de crevettes en Nouvelle-Calédonie » sera diffusé aux aquaculteurs une fois que les modalités de confidentialité des données auront été définies.

4. Biosécurité

4.1. Mise en place de la biosécurité à St-Vincent

Phase 1 : la situation de crise

La démarche de biosécurité au LEAD St-Vincent a été initiée par une situation de crise sanitaire. En effet, les crevettes originaires d'Hawaii et conservées sur le site dans le cadre du programme d'introduction de variabilité génétique dans le cheptel calédonien, ont progressivement montré une sensibilité importante (charge virale élevée, mortalité, croissance ralentie, déformations) au virus IHNV (agent pathogène de la Nécrose Hypodermique et Hématopoïétique Infectieuse). Les risques d'une transmission génétique de cette sensibilité à leur descendance à moyen terme, et de son développement par rupture de l'équilibre hôte/pathogène sur la souche dite « calédonienne » jusqu'alors considérée comme résistante à l'IHNV, ont conduit à partir d'octobre 2008, avec l'accord de l'UPRAC et l'appui de la DAVAR, à la suppression des animaux hawaïens ou hybrides (Figure 58) encore présents dans les bassins de terre, au vide sanitaire de ces derniers, et au repeuplement contrôlé du site.

La gestion de cette crise, ainsi que la mise en route d'une nouvelle structure d'écloserie ont servi de déclencheurs à la mise en place de cette démarche de biosécurité dans la filière géniteurs/écloserie du LEAD St-Vincent.

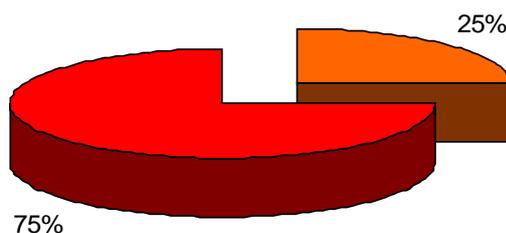


Figure 58 : Prévalence et charge virale en IHNV des crevettes hawaïennes prélevées le 21/10/08 à la Station Aquacole de Saint-Vincent (76 individus analysés)

Phase 2 : le vide sanitaire



Photo 11 : réalisation de drains sur le pourtour des bassins

Avec l'appui technique et sous le contrôle de la DAVAR (SIVAP/LNC), le vide sanitaire débute avec la destruction des populations d'un bassin d'hawaïennes pures, de deux bassins d'hybrides, et de quatre bassins de calédoniennes.

Les 17 bassins en terre de la station (8500 m²) ont ensuite subi un traitement de chloration ()/ déchloration, puis un chaulage par incorporation d'hydroxyde de calcium (150 g/m²). Quatre labours par bassin ont été effectués durant l'assec, ainsi que la réalisation de drains (Photo 11) et de curage des zones d'accumulations de matière organique.

Le matériel comme les filets anti prédation aviaire, les aérateurs, les cages d'élevage et accessoires, a également été nettoyé et/ou refait.

Phase 3 : le repeuplement

Étant donné qu'il est très difficile d'éradiquer, ou même d'exclure le virus IHNV, le plan de biosécurité s'attache donc à limiter le risque d'expression de la maladie qui lui est associé, l'IHNV, avec comme mesure principale, l'utilisation exclusive d'animaux calédoniens pas ou peu porteurs du virus.

Malgré la motivation et les efforts affichés pour mettre en place ce plan, les contraintes d'activité de la station et l'incertitude de disponibilité de cheptel de repeuplement nous ont contraint à :

- maintenir des animaux sur le site pendant le vide sanitaire fin 2008, bien que placés en dehors des bassins de terre;
- à utiliser des animaux infectés comme base de repeuplement, et prévoyant une baisse des portages IHNV

et une absence d'expression de la maladie sur leur descendance.

Des crevettes calédoniennes, issues des bassins de testage en mélange avec les hawaïennes, et porteuses du virus à 108 copies/μg ADN ont donc servi de géniteurs avant d'être détruites. Une attention particulière a été portée à l'élevage et à la manipulation des animaux, afin éviter au maximum toute source de stress favorisant la réplication du virus. Ces efforts semblent avoir eu quelques effets puisque la génération suivante (F1), qui a servi au repeuplement des bassins « propres », bien que montrant encore la présence du virus, affichait des valeurs de portage beaucoup plus faibles (autour de 102 à 103 copies/μg ADN). Les analyses ont été réalisées par PCR quantitative.

Phase 4 : le suivi du cheptel

La réflexion s'est ensuite attachée à identifier et évaluer les risques, et permettre l'application de mesures d'atténuation qui regroupées, minimisent le risque d'expression de l'IHHN. Les procédures d'hygiène de routine dans la conduite des productions et dans le contrôle des flux intrants et sortants (animaux, eau, aliments, personnel, équipement, nuisibles, déchets) en font partie entièrement, et ont pu être revues à cette occasion.

La démarche recouvre la filière géniteurs-soutien/écloseries et les produits attendus sont des lots de post-larves indemnes ou porteuses d'IHHNV à un niveau < ou = à 103 copies/μg d'ADN, niveau défini empiriquement en fonction de données épidémiologiques de terrain, comme le seuil en dessous duquel la maladie IHHN ne s'exprime pas. Ces animaux ont une finalité de matériel biologique pour l'expérimentation, et pour la production de géniteurs indemnes, en vue de maintenir la souche au sein du laboratoire. Le personnel impliqué a été identifié et désigné: animateur biosécurité et personnel de l'écloserie et bassins, et équipe Pathologie Infection et Epidémiologie (analyses IHHNV).

Les différentes étapes d'écloserie de la production de post-larves de crevettes *L. stylirostris* ont été décomposées dans Figure 59.

Les étapes de ce diagramme ont ensuite été reprises une à une ou regroupées de façon cohérente. La figure 60 montre l'exemple regroupement des étapes Maturation/Pontes/Éclosion, étant entendu que la même réflexion s'applique aux autres étapes.

Pour chacune de ces étapes, on procède alors à :

- l'identification des risques d'introduction du pathogène : intrants (géniteurs, air, eau, aliments, personnel, équipement, nuisibles) et sortants (nauplii, eau, déchets) ;
- l'évaluation des risques pour chacun d'eux (faible, moyen, élevé) ;
- l'élaboration de propositions d'actions d'atténuation des risques.

Le Tableau 8 montre l'exemple pour l'intrant « Géniteurs ».

Les actions zootechniques sont ensuite listées et complétées sous forme de procédures d'opération standards (POS) à

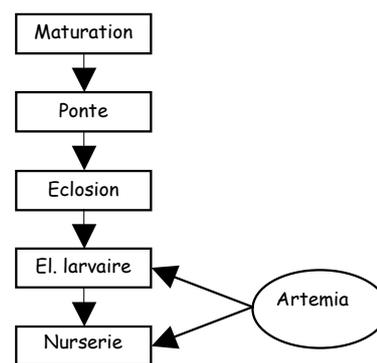


Figure 59 : Représentation schématique des étapes de la production de post-larves

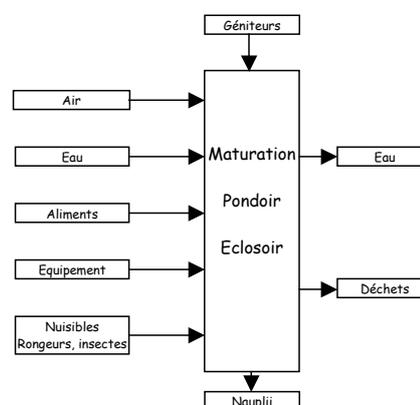


Figure 60 : Diagramme du cycle de vie pour les étapes maturation/ponte/éclosion

appliquer (Tableau 9).

La démarche de biosécurité a ainsi permis d'identifier et de définir la pertinence d'analyses IHHNV sur les animaux à des moments particuliers de leur élevage. La transmission verticale du virus présentant un niveau de risque élevé (avec le cannibalisme), des contrôles de portage des géniteurs (après épédonculation et première ponte des femelles) semblent être la méthode la plus appropriée pour prévenir ce mode de transmission (Motte et al., 2003).

Tableau 8 : Évaluation et actions d'atténuation pour l'intrant géniteurs

IDENTIFICATION	EVALUATION		ACTIONS D'ATTENUATION
	Intrants	Niveau de risque pathogène (général)	
GENITEURS		Élevé	<p>Moyens/Procédures de gestion du risque</p> <p>Avant stockage en maturation : désinfection par baignation des animaux à 5 ppm pendant 1 mn = 2 ml de solution iodée à 10% dans une poubelle de 40 l d'eau de mer.</p> <p>Analyse IHHNV : le seuil de charge virale IHHNV est fixé à 103 copies/μg ADN : si les lots de géniteurs dépassent ce seuil, en l'absence d'option de remplacement, ces lots peuvent quand même être utilisés pour produire des post-larves avant d'être détruits.</p> <p>Avant fécondation : désinfection des femelles par baignation des animaux à 5 ppm pendant 1 mn = 50μl de solution iodée à 10% dans une bassine de 3l d'eau de mer</p>

Tableau 9 : Différentes procédures d'opération standards pour les étapes ponte, maturation et éclosion

JOUR	PHASES	GESTION DES FLUIDES	ALIMENTATION	ACTIONS ZOOTECHNIE	ACTIONS BIOSECURITE
J -1	PREPARATION DES BACS MATURATION	Remplir avec eau à 26‰ et température à 26°C Les maintenir ainsi pendant 48 h (J-1 => J1)			
	PREPARATION PECHE	Remplir la remorque compartimentée avec de l'eau à 26‰			
J 0	PECHE GENITEURS		Ne pas nourrir les animaux	Pêche tôt le matin, de préférence à l'épervier Séparer ♂ et ♀ sans dépasser plus de 30 ♂ et 20 ♀ par compartiment ♂ : charge maximale : 550 g/m ² (= 70 ♂ de 40 g pour les bacs intérieurs de 5 m ²) ♀ : charge maximale : 450 g/m ² (= 45 ♀ de 50 g pour les bacs intérieurs de 5 m ²) Photopériode décalée jour/nuit = 14h/10h Allumage 19h, arrêt 9h. Suivi : 8h et 15h Température, Salinité, Mortalité et Mues	Chaussures réservée à l'écloserie et désinfection des mains au gel alcool avant entrée dans la salle de maturation Bain iodé des animaux à 5 ppm pendant 1 mn = 2 ml de solution iodée à 10% dans une poubelle de 40 l d'eau de mer
	BACS MATURATION	♂ : 0 % renouvellement ♀ : 0 % renouvellement		Suivi : 8h et 15h Température, Salinité, Mortalité et Mues	
	J 1				
J 2		15h renouvellement ♂ : 100 % = 3,4 litre/minute ♀ : 50 % = 1,7 litre/minute	15h : MSV Géniteurs 20 g pour ♂ et ♀	Suivi : 8h et 15h Température, Salinité, Mortalité et Mues	
J 3		Renouvellement ♂ : 100 % = 3,4 litre/minute ♀ : 50 % = 1,7 litre/minute	♂ : 8 h : 50g calmar 13h : 20 g MSV Géniteurs 16h : 20 g MSV Géniteurs ♀ : 8h : 50 g calmar 13h : 20 g MSV Géniteurs 16h : 6 à 10 moules selon la taille.	Siphonner les restes avant distribution ration Suivi : 8h et 15h Température, Salinité, Mortalité et Mues	Aliment frais : Ne sortir que le nécessaire à un repas Ne pas recongeler (utilisation de couteau à découper le congelé)
J 4	EPEDONCULATION	♂ : arrêt régulation thermique si température extérieure <28 et >22 ♀ : après épédonculation augmentation température de 2°C / jour jusqu'à 29°C. Renouvellement d'eau 100 % = 3,5 litres/minute Remplissage réserve + EDTA	♂ : 8 h : 50g calmar 13h : 20 g MSV Géniteurs 16h : 20 g MSV Géniteurs ♀ : 16h : 6 à 10 moules selon la taille	Suivi : 8h et 15h Température, Salinité, Mortalité et Mues	
J 5-J6 à J14	MATURATION ET FECONDATION		♂ : 8 h : 50g calmar 13h : 20 g MSV Géniteurs 16h : 20 g MSV Géniteurs ♀ : 8h : 50 g calmar 13h : 20 g MSV Géniteurs 16h : 6 à 10 moules selon la taille	Comptage approximatif des ♀ matures Pêche des ♂ : pesée, déspermation Pêche des ♀ : pesée, désinfection, fécondation. Suivi : 8h et 15h Température, Salinité, Mortalité et Mues	1 épuisette par bac, ou la rincer dans un bain de chlore entre 2 bacs 1 panier par bac ♀ : Bain iodé à 5 ppm pendant 1 mn = 50µl de solution iodée à 10% dans une bassine de 3l d'eau de mer Prélèvement pour analyse IHNV sur géniteurs ♂ déspermés
Environ J10	PONDOIRS	Remplissage avec eau chauffée de la réserve Pas de bullage		1 ♀ par pondoir Observation 1 fois par heure, Si ponte, prise d'échantillon pour taux de fécondation 1 h après. Après la ponte, bague de la ♀, remise dans bac initial et léger bullage dans pondoir	Prélèvement pour analyse IHNV sur géniteurs ♀ avant remise dans bac d'origine
Environ J11	ECLOSOIR	Remplissage avec eau chauffée de la réserve		Récupération des œufs en douceur. Pas + de 2 pontes par éclosoir.	Rinçage du matériel entre 2 pontes
	DECHETS				Coquilles de moules dans poubelles. Siphonage des bacs dans puisards Géniteurs utilisés > 10 ³ copies/µg ADN = consommation humaine EXCLUSIVEMENT autorisée Géniteurs < 103 copies/µg ADN = consommation humaine ou autre utilisation autorisée INCINERATION DE TOUS GENITEURS MORTS, MUES ET ALIMENTS NON CONSOMMES

Une autre série d'analyse est réalisée sur les larves en fin d'élevage larvaire et avant ensemencement. Le délai après lequel la maladie s'exprime dans le cas d'une transmission verticale du

virus étant de 30 à 60 jours, l'analyse ne devrait être effectuée qu'à l'âge minimum de P35 et juste avant l'ensemencement. Cependant et compte tenu de la difficulté à prolonger la phase

nurserie, le choix d'une analyse supplémentaire à mi-élevage en bassin à été retenu.

Initialement traité par UAZ (Lightner), les analyses par PCR quantitative (capacité de 20 échantillons en 48 heures) sont effectuées depuis janvier 2009 par l'équipe PIE.

La détermination de la taille de l'échantillon a tenu compte de résultats d'analyses effectuées par cette équipe au moment du vide sanitaire, et qui semblaient indiquer qu'un niveau de charge virale uniformément réparti dans le bassin pouvait être considéré.

Pour les géniteurs, 1 pool de 5 animaux par bac (population de 300 animaux) est donc prélevé.

En ce qui concerne les larves, ces dernières servant à l'établis-

sement des générations suivantes, la démarche est plus sévère et l'hypothèse est qu'on accepte qu'un pourcentage (10%) des animaux soit faiblement porteur dans la population échantillonnée (entre 10 000 et 15 000 animaux). Quatre pools de 10 animaux par bac d'élevage larvaire sont donc prélevés, le seuil de charge virale IHNV étant fixé à 103 copies/ μ g ADN :

- Si les lots de géniteurs dépassent ce seuil, en l'absence d'option de remplacement, ces lots peuvent quand même être utilisés pour produire des post-larves. Les lots de géniteurs sont ensuite détruits;
- Si les lots de post-larves dépassent ce seuil, ils sont systématiquement détruits.

4.2. Résultats et conclusions

En utilisant la procédure précédemment décrite, la présence du virus sur les F2 et F3 n'a plus été détectée à ce jour. Parallèlement, une population issue du bassin L de la ferme FAO et qui constituait une option de repeuplement supplémentaire avec des animaux se situant dans la limite autorisée (102 à 103 copies/ μ g ADN), ont produit une F1 sans détection d'IHNV non plus.

L'ensemble du cheptel présent à St-Vincent doit maintenant servir à maintenir une souche de crevette calédonienne dotée d'une traçabilité et d'un suivi sanitaire au niveau de l'IHNV, permettant l'utilisation d'animaux expérimentaux plus fiables et représentant aussi un potentiel pour la filière calédonienne. La poursuite de ces mesures est envisagée dans le prochain projet comme un outil d'aide à la minimisation des problèmes potentiels, à leur compréhension en cas d'apparition, et à la fiabilisation des résultats, sans exclure l'identification des risques bactériens.

La démarche se veut évolutive, et prend en compte la possibilité de changements physiques, biologiques, ou opérationnels qui nécessitent des mises à jour, en fonction des résultats obtenus et de l'évolution des connaissances scientifiques (veille scientifique).

La sensibilisation du personnel concerné, ainsi que son extension à d'autres équipes (logistique) est prévue pour encourager l'adoption et l'efficacité du plan.

Enfin l'expérience et les connaissances acquises permettront de continuer l'appui et le soutien à la filière dans ce domaine, notamment dans la réflexion sur les mesures de biosécurité développées par les éclosiers et sur le dossier de conservatoire de souche de crevettes.

5. Références bibliographiques

Frappier, J., Soulard, B., Beliaeff, B., Della Patrona, L., Herlin, J., Coatanéa, D. 2008. Premières approches pour l'analyse des données d'élevages des crevettes marines en Nouvelle-Calédonie. Ifremer/LEAD/RST. 2008-01, 57p. + annexes

Goarant, C., Herlin, J., Ansquer, D., Brizard, R., Marteau, A-L. 2004a. *Vibrio penaeicida* et le Syndrome 93 dans les fermes de crevettes de Nouvelle-Calédonie : revue et perspectives. in: Styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. Ed. Ifremer, Actes Colloq., 38, 203-209.

Goarant C., Herlin, J., Ansquer, D., Imbert, F., Domalain, D., Marteau, A-L. 2004b. Épidémiologie de *Vibrio nigripulchritudo* dans le cadre du Syndrome d'été : résultats préliminaires du programme DESANS. in: Styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. Ed. Ifremer, Actes Colloq., 38, 210-215.

Goarant, C., Ansquer, D., Herlin, J., Domalain, D., Imbert, F.,

and de Decker, S. 2006a. "Summer syndrome" In *Litopenaeus stylirostris* in new caledonia: Pathology and epidemiology of the etiological agent. Aquaculture, 253, 105-113.

Herbland, A., Harache, Y. 2008. Santé de la crevette d'élevage en Nouvelle-Calédonie. Editions Quae: 142 pp.

Motte, E., Yugcha, E., Luzardo, J., Castro, F., Leclercq, G., Rodriguez, J., Miranda, P., Borja, O., Serrano, J., Terreros, M., Montalvo, K., Narvaez, A., Tenorio, N., Cedeno, V., Mialhe, E., Boulo, V. 2003. Prevention of IHNV vertical transmission in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, 219, 57-70.

Ramage, Y., Soulard, B., Beliaeff, B., Herlin, J. 2011. Détermination d'indicateurs de performance des élevages de crevettes en Nouvelle-Calédonie. Ifremer/LEAD/RST 2011-03, 28p. + annexes.

Soulard B., 2008. Manuel de l'utilisateur Stylog - module ferme Version 5.0. Ifremer/LEAD/Protocole 2008-04, 83 p.

Annexes

1. Publications et communications

1.1. Articles dans revues à comité de lecture

- Bell J.D., Agudo N., Purcell S. W., Blazer P., Simutoga M., Pham D., Della Patrona L. (2007). Grow-out of sandfish *Holothuria scabra* in ponds shows that co-culture with shrimp *Litopenaeus stylirostris* is not viable. *Aquaculture* 273, 509–519.
- Castex M., Chim L., Pham D., Lemaire P., Wabete N., Nicolas J.-L., Schmidely P., Mariojouis C., 2008. Probiotic *P. acidilactici* application in shrimp *Litopenaeus stylirostris* culture subject to vibriosis in New Caledonia. *Aquaculture*, 275: 182-193.
- Castex M., Lemaire P., Wabete N., Chim L., (2009). Effect of dietary probiotic *Pediococcus acidilactici* on the antioxidant defences and oxidative stress status in shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *Aquaculture*, 294 : 306-313.
- Castex M., Lemaire P., Wabete N., and Chim L., 2010. Effect of probiotic *Pediococcus acidilactici* on antioxidant defences and oxidative stress of *Litopenaeus stylirostris* under *Vibrio nigripulchritudo* challenge. *Fish & Shellfish Immunology*, 28: 622-631.
- Chim L., Castex M., Pham D., Brun P., Lemaire P., Wabete N., Schmidely P., Mariojouis C., 2008. Evaluation of floating cages as an experimental tool for marine shrimp culture studies under practical earthen pond conditions. *Aquaculture*, 279: 63-69.
- de Lorgeril J., Gueguen Y., Goarant C., Goyard E., Mugnier C., Fievet J., Piquemal D., Bachère E., 2008. A relationship between antimicrobial peptide gene expression and capacity of a selected shrimp line to survive a *Vibrio* infection. *Molecular Microbiology*, 45: 3438-3445.
- Debenay J.-P., Della Patrona L., Herbland A., Goguenheim H., (2009). The impact of easily oxidized material (EOM) on the meiobenthos : Foraminifera abnormalities in shrimp ponds of New Caledonia; implications for environment and paleoenvironment survey. *Marine Pollution Bulletin* 59, 323–335.
- Debenay J.-P., Della Patrona L., Goguenheim H., (2009). Colonization of coastal environments by foraminifera : insight from shrimp ponds in New Caledonia (SW Pacific). *Journal of Foraminiferal Research*, 39, 249–266.
- Goarant C., Reynaud Y., Ansquer D., de Decker S., Merien F. (2007). Sequence polymorphism-based identification and quantification of *Vibrio nigripulchritudo* at the species and subspecies level targeting an emerging pathogen for cultured shrimp in New Caledonia. *Journal of Microbiological Methods* 70 (1), 30-38.
- Goyard E., Goarant C., Ansquer D., Brun P., de Decker S., Dufour R., Galinié C., Peignon J.-M., Pham D., Vourey E., Harache Y., Patrois J., 2008. Cross breeding of different domesticated lines as a simple way for genetic improvement in small aquaculture industries: Heterosis and inbreeding effects on growth and survival rates of the Pacific blue shrimp *Litopenaeus (Penaeus) stylirostris*. *Aquaculture*, 278: 43-50.
- Labreuche Y, O’Leary NA, de la Vega E, Veloso A, Gross PS, Chapman RW, Browdy CL, Warr GW. (2009). Lack of evidence for *Litopenaeus vannamei* Toll receptor (IToll) involvement in activation of sequence-independent antiviral immunity in shrimp. *Dev. Comp. Immunol.* 33(7):806-10.
- Labreuche Y., Veloso A., de la Vega E., Gross P.S., Chapman R.W., Browdy C.L., Warr G.W. 2010. Non-specific activation of antiviral immunity and induction of RNA interference may engage the same pathway in the Pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Developmental & Comparative Immunology*, 34(11):1209-18.
- Lemonnier H., Courties C., Mugnier C., Torretton J.P. and A. Herbland, 2010. Nutrient and microbial dynamics in eutrophying shrimp ponds affected or unaffected by vibriosis. *Mar. Pollut. Bull.* 60: 402-11.
- Le Roux F., Labreuche Y., Davis B.M., Iqbal N., Mangenot S. Goarant, C., Mazel D. and M.K. Waldor, 2011. Virulence of an emerging pathogenic lineage of *Vibrio nigripulchritudo* is dependent on two plasmids. *Environ. Microbiol.* 13(2):296-306.
- Lucas R., Courties C., Herbland A., Gouletquer P., Marteau A. L. and H. Lemonnier, 2010. Eutrophication in a tropical pond: Understanding the bacterioplankton and phytoplankton dynamics during a vibriosis outbreak using flow cytometric analyses. *Aquaculture*, 310:112-121.

- Metian M., Hédouin L., Eltayeb M.M., Lacoue-Labarthe Th., Teyssié J.-L., Mugnier Ch., Bustamante P. and M. Warnau, 2010. Metal and metalloid bioaccumulation in the Pacific blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson) from New Caledonia: laboratory and field studies. *Mar. Pollut. Bull.* 61: 576-584.
- Mugnier C., Zipper E., Goarant C., Lemonnier H., 2008. Combined effect of external ammonia and hypoxia on the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* survival and physiological response in relation to molt stage. *Aquaculture*, 274: 398-407.
- Reynaud Y., Saulnier D., Mazel D., Goarant C., Le Roux F., 2008. Correlation between detection of a plasmid and high-level virulence of *Vibrio nigripulchritudo*, a pathogen of the shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *Applied and Environmental Microbiology*, 74: 3038-47.
- Thomas Y., Courties C., El Helwe Y., Herbland A. and H. Lemonnier, 2010. Spatial and temporal extension of eutrophication associated with shrimp farm wastewater discharges in the New Caledonia lagoon. *Mar. Pollut. Bull.* 67: 387-398.
- Wabete N., Chim L., Lemaire P., Massabuau J.-C., 2008. Life on the edge : physiological problems in penaeid prawns *Litopenaeus stylirostris*, living on the low side of their thermopreference. *Marine Biology*, 15: 404-412.
- Walling E., Vourey E., Ansquer D., Beliaeff B., and C. Goarant, 2010. *Vibrio nigripulchritudo* monitoring and strain dynamics in shrimp pond sediments. *J. Appl. Microbiol.* 108: 2003-2011.

1.2. Articles dans revues sans comité de lecture

- Goyard E., Goarant C., Ansquer D., Broutoi F., Brun P., de Decker S., Dufour R., Galinié C., Mailliez J.-R., Peignon J.-M., Pham D., Vourey E., Patrois J., Harache Y., 2008. A case study of R & D for small isolated aquaculture industries : Genetic management of the domesticated *Litopenaeus stylirostris* shrimp population of New Caledonia. *Aquaculture Europe*, 33: 5-11.
- Goyard E., Goarant C., Ansquer D., Broutoi F., Brun P., de Decker S., Dufour R., Galinié C., Mailliez J.-R., Peignon J.-M., Pham D., Vourey E., Patrois J., Harache Y., 2008. Disease challenge studies of inbred and outbred shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) in New Caledonia. *Aquaculture Health International*, 13: 28-31.
- Patrois J., Goarant C., Goyard E., Harache Y., Primot P., Bador R. (2007). Blue shrimp quarantined in New Caledonia. Genetic variability program. *Global Aquaculture Advocate* 10(5), 90-92.
- Saulnier D., Reynaud Y., Arzul I., Miossec L., Le Roux F., Goarant C. (2007). Emergence de maladies chez les organismes d'intérêt aquacole : quelques scénarios illustrés d'exemples. *INRA Productions Animales*, 20(3), 207-212.

1.3. Ouvrages et articles dans ouvrages

- Della Patrona L., Brun P., 2008. Elevage de la Crevette Bleue en Nouvelle-Calédonie *Litopenaeus stylirostris* : Bases biologiques et zootechnie. Ouvrage Ifremer, Ifremer, 320 p.
- Herbland A., Harache Y., coord., 2008. Santé de la Crevette d'Elevage en Nouvelle-Calédonie. Editions Quae, 144 p.
- Latrouite D., Barbaroux O., Morizur Y., Patrois J., (2009). Trésors de la Mer. Les Crustacés. Editions Quae et Neva éditions. 103 pp.

1.4. Posters et communications orales dans des colloques ou groupes de travail

- Arfi R., Lemonnier H., Rodier M. 2010. Indicateurs de pression anthropiques et menaces liées à l'eutrophisation. – Nutriments ; concentrations en chlorophylle ; composition des communautés planctoniques de petites taille. Séminaire « Vers un suivi optimal des lagons et récifs ». Nouméa, UNC, octobre 2010.
- Beliaeff B., Chim L., Della Patrona L., Goyard E., Herlin J., Labreuche Y., Walling E., Ansquer D., Brun P., Castex M., Coatanea D., Courties C., De Lorgeril J., Frappier J., Huber M., Lemaire P., Lemonnier H., Loubersac L., Lucas R., Patrois J., Pham D., Ramage Y., Soulard B., Vic M., Vourey E., Wabete N., (2009). DEDUCTION, a Research Project for Shrimp Farming Sustainability in New-Caledonia. 11ème Inter-Congrès des Sciences du Pacifique/2ème Assises de la Recherche Française dans le Pacifique, Papeete, Tahiti, 2-5 mars 2009. Communication.
- Castex M., Chim L., Lemaire P., Wabete N., Pham D. (2009). Evaluation of floating cages as an experimental tool for marine shrimp culture studies under practical earthen pond conditions. 11ème Inter-Congrès des Sciences du Pacifique/2ème Assises de la Recherche Française dans le Pacifique, Papeete, Tahiti, 2-5 mars 2009. Poster.

- Castex M., Chim L., Lemaire P., Wabete N., Pham D. (2009). Three years of experimental and applied research on the use of dietary probiotic *Pediococcus acidilactici* in shrimp culture : overview of the main results. 11ème Inter-Congrès des Sciences du Pacifique/2ème Assises de la Recherche Française dans le Pacifique, Papeete, Tahiti, 2-5 mars 2009. Poster.
- Charme M., Ansquer D., Vourey E., Walling E., Beliaeff B., Labreuche Y. (2009). Detection of shrimp pathogen *Vibrio nigripulchritudo* in sediments of a New-Caledonian grow-out pond during a drying period. 11ème Inter-Congrès des Sciences du Pacifique/2ème Assises de la Recherche Française dans le Pacifique, Papeete, Tahiti, 2-5 mars 2009. Poster.
- Chim L., Castex M., Lemaire P., Wabete N. (2009). Oxidative stress studies applied to the farmed shrimp *Litopenaeus stylirostris* in New Caledonia. 11ème Inter-Congrès des Sciences du Pacifique/2ème Assises de la Recherche Française dans le Pacifique, Papeete, Tahiti, 2-5 mars 2009. Poster.
- Chim L., Huber M., Cardona E., Lemaire P., Brun P. and J. Goguenheim. 2010. Floc culture system applied for intensive broodstock farming of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*. Poster présenté à Tahiti Aquaculture 2010. Papeete du 6 au 11 décembre.
- Chim L., Huber M., Lemaire P., Brun P., and J., Goguenheim. 2010. Floc culture system applied for intensive broodstock farming of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*: first trial carried out in New Caledonia. In book of abstracts. Poster présenté à Aquaculture Europe 2010. Porto, du 5 au 9 octobre 2010.
- Debenay J-P., Della Patrona L., Herbland A., Goguenheim H., Peignon J-M. (2009). Foraminiferal assemblages : tools for assessment of shrimp pond conditions. 11ème Inter-Congrès des Sciences du Pacifique/2ème Assises de la Recherche Française dans le Pacifique, Papeete, Tahiti, 2-5 mars 2009. Poster.
- Della Patrona L., Brun P., Peignon J-M. (2009). L'élevage de la crevette bleue en Nouvelle-Calédonie. 11ème Inter-Congrès des Sciences du Pacifique/2ème Assises de la Recherche Française dans le Pacifique, Papeete, Tahiti, 2-5 mars 2009. Poster.
- Goarant C., Reynaud Y., Ansquer D., de Decker S., Merien F. (2007). The multiple challenges for quantifying pathogenic *Vibrios* in a marine aquaculture system. Roche User Group, 2007, Taupo, New Zealand, 1-3 novembre 2007, communication orale.
- Goyard E., Goarant C., Brun P., Herlin J., Pham D., Beliaeff B., Harache Y., Loubersac L., Patrois J. (2009). Genetic improvement strategy in small aquaculture industries : the new calenonian shrimp experience. 11ème Inter-Congrès des Sciences du Pacifique/2ème Assises de la Recherche Française dans le Pacifique, Papeete, Tahiti, 2-5 mars 2009. Poster.
- Lemaire P., Chim L. (2007). Effect of experimental temperature fluctuations on some oxidative stress bio-indicators in the digestive gland of the shrimp *Litopenaeus stylirostris*. 3rd International workshop on comparative aspects of oxidative stress in biological systems. Cuautla, Morelos, Mexico, 16 - 19 October 2007, poster.
- Lemonnier H., 2008. Lagoon water quality and shrimp farming: a state of knowledge. International PECC Project Noumea, New Caledonia, 26-28 May 2008. Communication.
- Le Roux F., Zouine M., Chakroun N., Binesse J., Saulnier D., Goarant C., Bouchier C., Zidane N., Ma L., Rusniok C., Buchrieser C., Polz M., Mazel (2007). Genome sequence of *Vibrio splendidus*: a dominant group of bacterioplankton presenting a huge genotypic diversity. *Vibrio* 2007, Paris, 28 novembre au 1er décembre 2007, poster.
- Loubersac L., Beliaeff B. (2009). Des structures de dialogue facilitant la coordination dans la programmation de la recherche au service du développement durable d'une activité marine. Le cas de la crevette en Nouvelle-Calédonie. 11ème Inter-Congrès des Sciences du Pacifique/2ème Assises de la Recherche Française dans le Pacifique, Papeete, Tahiti, 2-5 mars 2009. Communication.
- Lucas R., Courties C., Lemonnier H., Herbland A., 2008. A flow cytometric approach to follow eutrophication in ponds. The International conference and exhibition of EAS, Krakow, Poland, 15-18 September 2008. Communication.
- Pham D., Patrois J., Goyard E., Mailliez J-R., Broutoi F., Dufour R., Peignon J-M., Brun P., Lambert C., Pita E. (2007). Reproduction of the Hawaiian strain of Pacific Blue Shrimp *Litopenaeus stylirostris* in New Caledonia. Caribbean and Latin American Aquaculture 2007, San Juan, Porto Rico, 6-9 novembre 2007, poster.
- Pham D., Chim L., Castex M., Wabete N., Lemaire P., Brun P. (2007). Floating cages as an experimental tool for shrimp culture studies: first attempts to check their reliability. Caribbean and Latin American Aquaculture 2007, San Juan, Porto Rico, 6-9 novembre 2007, poster.
- Pham D., Lemaire P., Wabete N., Meralikan M., Chim L., 2008. Evolution of the antioxidant defences and «oxidative stress» bio-indicators during larval ontogenesis of the shrimp *Litopenaeus stylirostris*. WAS, 2008, Pusan (South Korea). Poster.
- Pham D., Wabete N., Mailliez J-R., Broutoi F., Chim L. (2009). Live preys in shrimp culture : nutritional and sanitary considerations on the use of *Artemia* in New Caledonia. 11ème Inter-Congrès des Sciences du Pacifique/2ème Assises de la Recherche Française dans le Pacifique, Papeete, Tahiti, 2-5 mars 2009. Poster.
- Pham D., Wabete N., Lemaire P., Mailliez J-R., Broutoi F., Chim L. (2009). Could antioxidant status and oxidative stress bio-indicators be used to assess shrimp offspring quality ? Larvi 2009, 5th fish and shellfish larviculture symposium, September 7-10, 2009, Ghent University, Belgium. Poster.
- Reynaud Y., Saulnier D., Mazel D., Goarant C., Le Roux F (2007).

Identification of a plasmid associated with virulence in *Vibrio nigripulchritudo*, a pathogen of the shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *Vibrio* 2007. Paris, 28 novembre au 1er décembre 2007, poster.

Soulard B., Frappier J., Herlin J., Beliaeff B. (2009). *STYLOG*, : base de données pour le suivi des élevages de crevettes de Nouvelle-Calédonie. 11ème Inter-Congrès des Sciences du Pacifique/2ème Assises de la Recherche Française dans le Pacifique, Papeete, Tahiti, 2-5 mars 2009. Poster.

Wabete N., Lemaire P., Pham D., Chim L., Massabuau J-C., 2008. Evolution of the antioxidant defences and «oxidative stress» bio-indicators in the shrimp *Litopenaeus stylirostris* af-

ter handling stress. *Australasia Aquaculture*, Brisbane. Poster.

Wabete N., Chim L. (2009). Physiological problems in penaeid prawns cultivated on the low side of their thermopreferendum : case study with *Litopenaeus stylirostris* reared in New Caledonia. *AQUACULTURE EUROPE 2009* «New Research Frontiers», Trondheim, Norway August 14-17. Communication.

Walling E., Ansquer D., Vourey E., Goarant C., 2008. Shrimp pathogen detection in the farming environment: analysis of pond water and sediment samples using molecular tools. 7ème Symposium sur les Maladies de l'Aquaculture en Asie, Taïpe. Poster.

1.5. Thèses et HDR

Lemonnier H. (2007). Effet des conditions environnementales sur le développement des pathologies à *Vibrio* dans les élevages de crevettes en Nouvelle-Calédonie. Thèse de doctorat en Océanographie Biologique, Université de La Rochelle, mai 2007, 274 pp.

Reynaud Y., 2008. Identification de marqueurs génétiques de la virulence chez *Vibrio nigripulchritudo*, un pathogène de crevettes pénéides en Nouvelle-Calédonie. Thèse doctorat de l'Université Paris 6 – Pierre et Marie Curie, Ecole doctorale

B2M – Biochimie et Biologie Moléculaire, 8 avril 2008, 230 pp.

Castex M. (2009). Evaluation du probiotique bactérien *Pediococcus acidilactici* MA18/5M chez la crevette pénéide *Litopenaeus stylirostris* en Nouvelle-Calédonie. Thèse de doctorat en Physiologie Nutrition, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech, avril 2009, 399 pp.

1.6. Rapports de contrats (CEE, FAO, Convention...) et comptes-rendus (expérience, essai, campagne de mesures...

Chim L. 2010 Commentaires sur la section 5 (Aliments pour poissons, crustacés et échinodermes) du document référencé RCE/889/2008 modifié mars 2010. Note adressée Fanny Lardier, INAO Chargée de mission technique et réglementaire AB Institut National de l'Origine et de la qualité 51 rue d'Anjou 75008 PARIS.

Collectif DAC (2007). Contribution de l'Ifremer au rapport final du GFA sur les expérimentations dites de « sortie de crise » menées sur la ferme AIGUE-MARINE durant la saison 2006 / 2007. Rapport d'avancement rédigé dans le cadre du contrat Ifremer-nc/2006-426. Ifremer/DAC/RC 2007-01, 49 pp.

Della Patrona L. (2007) Contribution de l'Ifremer au projet Structuration écologique et bilan des processus biogéochimiques au sein d'une mangrove « atelier » (Baie de Térémba, Nouvelle-Calédonie) – Impact potentiel des effluents de la crevetticulture. . Rapport intermédiaire pour le Ministère de l'Outre-Mer, 19pp.

Goyard E., Goarant C., Ansquer D., Broutoi F., Brun P., de Decker S., Dufour R., Galinié C., Mailliez J-R., Peignon J-M., Pham D., Vourey E., Harache Y., Patrois J. (2007). Introduction in New

Caledonia of a population of *Litopenaeus stylirostris* domesticated in Hawaii : Report on reproduction performances of the Hawaiian population reared in New Caledonia after 2 years of testing. Ifremer/DAC/RC 2007-02, 9 pp.

Lemonnier H., 2010. Etude de faisabilité d'une mise en place de mesures compensatoires par replantation de palétuviers dans le cadre de la construction de l'usine du Nord : Volet sédiment. Rapport de mission, confidentiel, 36 p.

Marchand C., Allenbach M., Lallier-Vergès E., Della Patrona L., Virly S., Rataud C., 2008- Structuration écologique et bilan des processus biogéochimiques au sein d'une mangrove « atelier » (Baie de Térémba, Nouvelle-Calédonie) – Impact potentiel des effluents de la crevetticulture. Rapport MOM 2007-2008; 131 pp.

Patrois J., Goyard E., Peignon J-M., Dufour R., Ansquer D. (2007) Sécurisation des souches de crevettes d'élevage en Nouvelle-Calédonie. Résultats de la quarantaine et du conservatoire expérimental - Eléments pour la définition d'une stratégie de sécurisation des souches de crevettes en Nouvelle-Calédonie. Rapport final pour le Ministère de l'Outre-Mer

1.7. Notes aux professionnels et aux partenaires institutionnels

- Collectif DAC (2007) Projet DEDUCTION Développement DURable de la Crevetticulture, Traitement de l'Information et Observatoire du système en Nouvelle Calédonie » - Structure et programmation pluriannuelle proposées au Comité Mixte.. 2007-2008.
- Collectif DAC (2007) Projet DEDUCTION Développement DURable de la Crevetticulture, Traitement de l'Information et Observatoire du système en Nouvelle Calédonie » - Programmation annuelle 2007 Goguenheim J., Chim L. (2009). Elevage de géniteurs de *Litopenaeus stylirostris* en système floc : synthèse bibliographique et protocole de production. Ifremer/LEAD/NotCad 2009-01, 14 pp.
- Collectif DAC (2007) Projet DEDUCTION Développement DURable de la Crevetticulture, Traitement de l'Information et Observatoire du système en Nouvelle Calédonie » - Programmation annuelle 2008 Pham D., Herlin J., Wabete N. Test de toxicité de l'EDTA sur les larves de *L. stylirostris*, Compte-Rendu d'expérimentation, août 2010.
- Collectif LEAD 2008. Projet DEDUCTION Développement DURable de la Crevetticulture, Traitement de l'Information et Observatoire du système en Nouvelle-Calédonie » - Programmation annuelle 2009 Pham D., Herlin J., Wabete N. Test 1 des lots d'Artemia, , Compte-Rendu d'expérimentation, sept. 2010.
- Collectif LEAD 2008. Projet DEDUCTION Développement DURable de la Crevetticulture, Traitement de l'Information et Observatoire du système en Nouvelle-Calédonie » - Bilan Pham D., Herlin J., Wabete N. Test 2 des lots d'Artemia, , Compte-Rendu d'expérimentation, sept. 2010.
- Pham D., Labreuche Y., Herlin J., Wabete N. Test Vibrio-block. Compte-Rendu d'expérimentation, nov. 2010.
- Pham D., Labreuche Y., Herlin J., Wabete N. Evaluation de l'efficacité du traitement TRISULMIX, Compte-Rendu d'expérimentation, déc. 2010.

1.8. Rapports scientifiques et techniques

- Della Patrona L., Brun P., Herbland A. (2007). Les sols des fonds de bassins et leur gestion durant les assècs. Etat des connaissances. Ifremer/DAC/RST. 2007-03, 52 pp.
- Frappier J., Soulard B., Beliaeff B., Della Patrona L., Herlin J., Coatanéa D., 2008. Premières approches pour l'analyse des données d'élevages des crevettes marines en Nouvelle-Calédonie. Ifremer/LEAD/RST. 2008-01, 57 pp.
- Goyard E., Goarant C., Ansquer D., Broutoi F., Brun P., de Deccker S., Dufour R., Galinié C., Mailliez J-R., Peignon J-M., Pham D., Vourey E., Harache Y., Patrois J. (2007). Introduction en Nouvelle-Calédonie de la souche de crevette *Litopenaeus stylirostris* domestiquée à Hawaï : Bilan de l'opération après deux années de testage de performances des crevettes de types génétiques « Calédoniennes », « Hawaïennes » et « Hybrides ». Ifremer/DAC/RST 2007-01, 48 pp.
- Herbland A. (2007). La culture du phytoplancton dans les bassins aquacoles. Aspects théoriques et applications pratiques. Ifremer/DAC/RST. 2007-04, 26 pp.
- Patrois J., Goyard E., Peignon J-M., Dufour R., Ansquer D. (2007). Sécurisation des souches de crevettes d'élevage en Nouvelle-Calédonie : Résultats de la quarantaine et du conservatoire expérimental et éléments pour la définition d'une stratégie de sécurisation des souches de crevettes en Nouvelle-Calédonie. Ifremer/DAC/RST. 2007-02, 43 pp.

1.9. Rapports d'activités

- Chim L. (2007). Participation à la conférence de l'Asian-Pacific Aquaculture 2007 à Hanoi, Vietnam. Ifremer/DAC/RM 2007-03, 11 pp.
- Chim L., 2008. Rapport de mission à Paris, Montpellier, Nantes et Brest. 20, 24-28 novembre et 2-3 décembre 2008. Ifremer/LEAD/RM 2008-04, 5 pp.
- Chim L., T., Réquillart, G., Agniel 2010 Mission d'étude de la Province Sud à Nha Trang (Viêt Nam) sur la diversification aquacole : coopération scientifique et technique. Rapport de mission pour la PS. 6 pages.
- Collectif DAC (2007). Rapport d'activité 2006.
- Collectif LEAD 2008. Rapport d'activité 2007.
- Collectif DAC (2009). Rapport d'activité 2008.

- Collectif LEAD 2010. Rapport d'activité 2009.
- Herlin J., 2008. Rapport de mission à la conférence 7th Symposium on Diseases in Asian Aquaculture. Taipei, Taiwan, 22-26 juin 2008. Ifremer/LEAD/RM 2008-02, 39 pp.
- Herlin J. (2009). Compte rendu de mission – Conférence internationale de biosécurité en Aquaculture, 17-18 août 2009, Trondheim, Norvège. Ifremer/LEAD/RM 2009-04, 23 pp.
- Hubert M. (2009). Rapport de mission du 20 au 28 mai 2009, Fidji. Visite technique d'un projet d'élevage de crevettes en cages flottantes. Ifremer/LEAD/RM 2009-01, 12 pp.
- Lemaire P. (2007). Participation au 3rd International workshop on comparative aspects of oxidative stress in biological systems. Cuautla, Morelos, Mexico, 16 - 19 October 2007. Ifremer/DAC/RM 2007-04, 11 pp.
- Loubersac L., Beliaeff B., 2008. Rapport de mission en Australie. 17-24 septembre 2008. Ifremer/LEAD/RM 2008-03, 12 pp.
- Patrois J. (2009). Report of the mission carried out by Jacques Patrois, Ifremer Aquaculture Specialist, in Fiji, Galoa Aquaculture Center and USP School of Marine Studies. Ifremer/LEAD/RM 2009-03, 7 pp.
- Pham D. (2007). Rapport de mission en Australie. 30 juillet au 5 août 2007. Ifremer/DAC/RM 2007-01, 13 pp.
- Pham D. (2007). Rapport de mission à Fidji. 18 au 25 août 2007. Ifremer/DAC/RM 2007-02, 12 pp.
- Pham D., 2008. Rapport de mission à la conférence World Aquaculture 2008 de la WAS. Busan, République de Corée, 19-23 mai 2008. Ifremer/LEAD/RM 2008 - 01, 21 pp.
- Pham D. (2009). Rapport de mission, Symposium LARVI 2009, Ghent, Belgique. Ifremer/LEAD/RM 2009-02, 10 pp.
- Soulard B. (2009). Compte-rendu de mission au Centre Océanologique du Pacifique, Tahiti, du 4 au 11 décembre 2009. Besoin en structuration de données relatives aux huîtres perlières. Ifremer/LEAD/RM 2009-05

1.10. Mémoires d'étudiants

- Alt A., 2008. Mise en place d'un protocole d'analyse des lipides des sédiments de bassins d'élevage de crevettes. Rapport pour l'obtention de la Licence Professionnelle « Aquaculture et gestion durable de son environnement, Univ. La Rochelle, Ifremer/LEAD/RStages 2008-01, 32 pp.
- Beduit A. (2009). Estimation de la bioturbation engendrée par les crevettes dans les élevages. Rapport de stage BTS CREU-FOP. Ifremer/LEAD/RStages 2009-04, 51 pp.
- Bourgue L-M. (2009). Première évaluation de l'élevage en cage de géniteurs de *Litopenaeus stylirostris* et influence des antioxydants nutritionnels et des acides gras essentiels sur les performances de reproduction et la qualité larvaire. Rapport de stage de 2ème année AgroParisTech, Ifremer/LEAD/RStages 2009-02, 35 pp.
- Cardona E. (2010). Adaptation d'une méthode d'élevage intensif de géniteurs en FLOC bactérien de la crevette *Litopenaeus stylirostris* en Nouvelle-Calédonie. Rapport de stage Master 2 BGAE, Université Montpellier 2, Ifremer/LEAD/RStages 2010-02, 27 pp.
- Charme M., 2008. Effet de l'assec sur la détection de *Vibrio nigripulchritudo*, une bactérie pathogène de la crevette *Litopenaeus stylirostris*, dans le fond d'un bassin de Nouvelle-Calédonie. Rapport de stage AgroParisTech. Ifremer/LEAD/RStages 2008-02, 41 pp.
- Coulbaux S. (2010). Etude technico-économique de l'élevage de géniteurs de *Litopenaeus stylirostris* en système FLOC. Rapport de stage 3ème année ISTOM, Ecole d'ingénieur en agro-développement International, Ifremer/LEAD/Rstages 2010-04, 66 pp.
- Fersing G. (2009/2010). Influence des méthodes d'élevages sur l'état physiologique de la crevette *Litopenaeus stylirostris* et sur la qualité de l'eau en Nouvelle-Calédonie. Rapport de stage BTS Anabiotech. Ifremer/LEAD/RStages 2010-01, 54 pp.
- Givaudan N., 2008. Mise au point d'un stress oxydant standardisé et évaluation préliminaire du Levucell SB20 en tant que probiotique alimentaire chez la crevette *Litopenaeus stylirostris*. Rapport de stage de 2ème année AgroParisTech, 65 pp.
- Habert L. (2007). Etude comparative du métabolisme oxydatif et allocation énergétique de deux types génétiques de la crevette *Litopenaeus stylirostris*. Rapport pour l'obtention du Diplôme de Technicien Supérieur de la Mer (DTSM), Intechmer. Ifremer/DAC/RStages 2007-01, 68 pp.
- Lorioux A. (2010). Intégration et exploitation de données de suivi environnemental du milieu marin. Rapport de stage Master 2 IDT, Université Joseph Fourier, Grenoble, Ifremer/LEAD/Rstages 2010-03, 67 pp.
- Moleana T. (2007). Les activités du Laboratoire Aquacoles de Calédonie. Rapport production, session 2006-2008. BTSA Productions Aquacoles. Ifremer/DAC/RStages 2007-02, 43 pp
- Peignon J. (2007). Elevage de pré-géniteurs hawaïiens & Mise au point et construction de cages flottantes. Rapport pour l'obtention du Diplôme de Technicien Spécialisé en Aquaculture (CREUFOP). Ifremer/DAC/RStages 2007-03, 54 pp
- Robert O. (2009). Compte rendu de stage de 1ère année BTSA Développement de l'Agriculture des Régions Chaudes. Ifremer/LEAD/RStages 2009-03, 21 pp.

1.11. Autres types de rapports

- Castex M., Chim L. (2007). Optimisation de l'administration du probiotique alimentaire *Pediococcus acidilactici* MA 18/5 M (Bactocell). Ifremer/DAC/Fiche Bio 2007-01.
- Collectif DAC (2007). Pourquoi élever la crevette *Litopenaeus stylirostris* plutôt qu'une autre espèce en Nouvelle-Calédonie ? Ifremer/DAC/Fiche Bio 2007-05.
- de Decker S., Ansquer D., Goarant C. (2007). Interactions crevettes / *Vibrio nigripulchritudo* HP : quelques résultats d'intérêt. Ifremer/DAC/Fiche Bio 2007-02.
- Della Patrona L., 2008. Technique de séparation des animaux de la méiofaune utilisée au DAC/Ifremer. Ifremer/LEAD/Protocole 2008-01.
- Goarant C., Reynaud Y., de Decker S., Ansquer D., Herlin J., Wapoto B., Saulnier D., Le Roux F. (2007). *Vibrio nigripulchritudo*, un pathogène émergent pour la crevette d'élevage en Nouvelle-Calédonie. Ifremer/DAC/Fiche Bio 2007-03.
- Goarant C., De Decker S., Ansquer D., Herlin J. (2007). *Vibrio nigripulchritudo* HP et le Syndrome d'été : prévalences et portage en relation avec les épisodes de mortalité. Ifremer/DAC/Fiche Bio 2007-04.
- Goyard E., Goarant C., Ansquer D., Broutoi F., Brun P., de Decker S., Dufour R., Galinié C., Mailliez J.-R., Peignon J.-M., Pham D., Vourey E., Harache Y., Patrois J. (2007). Bilan de deux années de testage de performances des crevettes de types génétiques «Calédoniennes», «Hawaïennes» et «Métisses». Ifremer/DAC/Fiche Bio 2007-06.
- Goyard E., Baron S. (2009). Le génotypage comme outil de reconnaissance de souches de crevettes *L. stylirostris*. Ifremer/LEAD/Fiche Bio 2009-01.
- Goyard E., Ansquer D., Broutoi F., Brun P., Dufour R., Mailliez J.-R., Peignon J.-M., Pham D., Vourey E., Walling E., Patrois J. (2009). Résistance spécifique à *V. penaeicida* des crevettes «Métisses» issues du croisement de première génération des types génétiques «Calédonie» et «Hawaïi». Ifremer/LEAD/Fiche Bio 2009-02.
- Goyard E., Broutoi F., Brun P., Dufour R., Mailliez J.-R., Peignon J.-M., Pham D., Vourey E., Walling E., Patrois J. (2009). Reproduction comparée des crevettes *L. stylirostris* de types génétiques «Calédonie» et «Hawaïi». Ifremer/LEAD/Fiche Bio 2009-03.
- Herbland A., 2008. Utilisation du fluorimètre et turbidimètre de terrain Aquafluor® (Turner Designs) Ifremer/LEAD/Protocole 2008-02.
- Herbland A. (2009). Utilisation du fluorimètre TD-700. Ifremer/LEAD/Protocole 2009-02.
- Herlin J. (2009). Veille clinique dans le cadre du réseau d'épidémiovigilance de la filière aquacole crevette en Nouvelle-Calédonie. Ifremer/LEAD/Protocole 2009-01.
- Herlin J., 2010. La biosécurité à l'Ifremer LEAD, Station de Saint-Vincent.» Fiche biotechnique(2010-02): Ifremer/LEAD/Fiche biotechnique 2010-01:
- Huber M., Cardona E., Fersing G., Lemaire P., Brun P., Mailliez J.-R., Broutoi F., Peignon J.M, Marteau. A. L., Goguenheim J., Chim L. (2010). Premiers géniteurs de *L. stylirostris* issus d'élevages hyper-intensifs en floc en Nouvelle-Calédonie : performances comparées avec les géniteurs des élevages traditionnels. Ifremer/LEAD/Fiche biotechnique 2010-02:
- Labreuche Y., Ansquer D., Pallandre L. (2009). Guide pour l'utilisation des salles d'infections expérimentales. Ifremer/LEAD/Protocole 2009-03.
- LEAD Koné, 2008. Bulletin technique d'élevage, campagne 2007-2008, Webuihoone. Ifremer/LEAD/BTE 2008-1.
- LEAD Koné 2008. Bulletin technique d'élevage, campagne 2007-2008, FAO. Ifremer/LEAD/BTE 2008-2.
- LEAD Koné, 2008. Bulletin technique d'élevage, campagne 2007-2008, April. Ifremer/LEAD/BTE 2008-3.
- LEAD Koné, 2008. Bulletin technique d'élevage, campagne 2007-2008, FAMB. Ifremer/LEAD/BTE 2008-4.
- LEAD Koné, 2008. Bulletin technique d'élevage, campagne 2007-2008, Sodacal. Ifremer/LEAD/BTE 2008-5.
- LEAD Koné, 2008. Bulletin technique d'élevage, campagne 2007-2008, Aquamon. Ifremer/LEAD/BTE 2008-6.
- LEAD Koné, 2009. Bulletin technique d'élevage, campagne 2008-2009, Sodacal. Ifremer/LEAD/BTE 2009-1.
- LEAD Koné, 2009. Bulletin rétrospectif d'élevage, campagne 2008-2009, Sodacal. Ifremer/LEAD/BTE 2009-2.
- LEAD Koné, 2009. Bulletin technique d'élevage, campagne 2008-2009, Webuihoone. Ifremer/LEAD/BTE 2009-3.
- LEAD Koné, 2009. Bulletin rétrospectif d'élevage, campagne 2008-2009, Webuihoone. Ifremer/LEAD/BTE 2009-4.
- LEAD Koné, 2009. Bulletin technique d'élevage, campagne 2008-2009, FAMB. Ifremer/LEAD/BTE 2009-5.
- LEAD Koné, 2009. Bulletin rétrospectif d'élevage, campagne 2008-2009, FAMB. Ifremer/LEAD/BTE 2009-6.
- LEAD Koné, 2009. Bulletin technique d'élevage, campagne 2008-2009, Pointe Monot. Ifremer/LEAD/BTE 2009-7.
- LEAD Koné, 2009. Bulletin rétrospectif d'élevage, campagne

2008-2009, Pointe Monot. Ifremer/LEAD/BTE 2009-8.

Peignon J-M., Dufour R., Morvan P., Goyard E. (2009). Marquage individuel de crevettes par bagues oculaires : une technique simple et utile pour la sélection de géniteurs. Ifremer/LEAD/Fiche Bio 2009-04.

Pham D., Wabete N., Lemaire P., Mailliez J.-R., Broutoi F., Chim L., 2008. Contribution à l'amélioration des survies et performances de reproduction de *L. stylirostris* en saison fraîche en Nouvelle-Calédonie. Ifremer/LEAD/Fiche Bio 2008-01.

Pham D., Vourey E., Ansquer D., Walling E., 2008. Biosécurité en éclosérie: le rinçage des Artemias. Ifremer/LEAD/Fiche Bio 2008-02.

Soulard B., 2008. Manuel de l'utilisateur de la collection de souches de Nouvelle-Calédonie Ifremer/LEAD/Protocole 2008-03.

Soulard B., 2008. Manuel de l'utilisateur Stylog - module ferme Version 5.0 Ifremer/LEAD/Protocole 2008-04.

1.12. Activités de diffusion des connaissances

Della Patrona L., Debenay J.P. 2010. Relation Biodiversité-conditions environnementales : le cas des foraminifères du lagon, de la mangrove et des bassins de crevettes de Nouvelle-Calédonie, Fête de la Science 2010 - Ifremer Nouvelle-Calédonie, Département LEAD/NC.

Della Patrona L., Duke N., Loubersac L. 2010. Biodiversité des plantes halophytes herbacées des tannes de Nouvelle-Calédonie, Fête de la Science 2010 - Ifremer Nouvelle-Calédonie, Département LEAD/NC.

LEAD NC. Participation à l'élaboration du Portail de la Biodiversité en Nouvelle-Calédonie (www.biodiversite.nc)

Lemonnier H., Escande M-L, Courties C, 2010. Biodiversité algale dans les bassins d'élevage de crevettes en Nouvelle-Calédonie : une nouvelle espèce d'algue, Fête de la Science 2010 - Ifremer Nouvelle-Calédonie, Département LEAD/NC.

Loubersac L., collectif Ifremer NC (2007). Refonte du site internet sous Eziweb : <http://www.ifremer.fr/ncal>

Loubersac L., Patrois J., 2008. Gestion du site internet sous Eziweb : <http://www.ifremer.fr/ncal>

Loubersac L., Patrois J. (2009). Gestion du site internet sous Eziweb : <http://www.ifremer.fr/ncal>

Loubersac L., Patrois J. (2010). Gestion du site internet sous Eziweb : <http://www.ifremer.fr/ncal>.

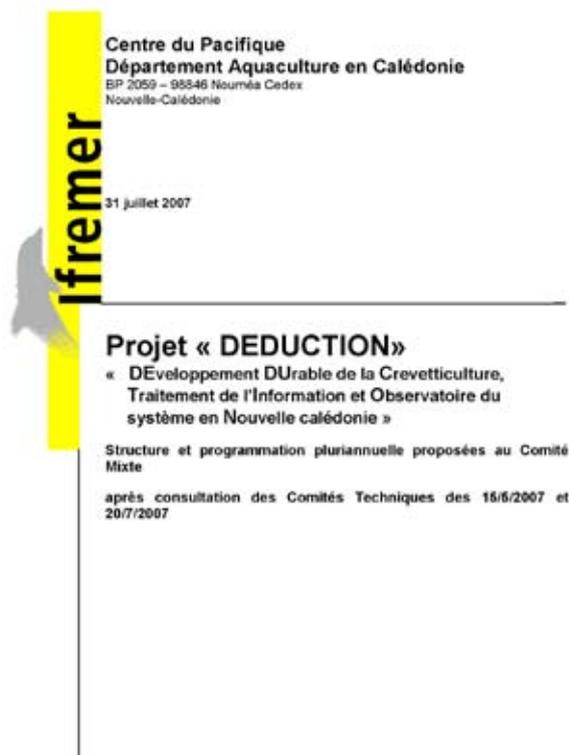
Patrois J. 2010. Biodiversité des crevettes pénelides indigènes d'intérêt aquacole de Nouvelle-Calédonie, Fête de la Science 2010 - Ifremer Nouvelle-Calédonie, Département LEAD/NC.

Patrois J., 2008. A la découverte des crevettes. Morphologie et anatomie. Poster.

Patrois J., 2008. A la découverte des crevettes. Mode de vie et reproduction. Poster.

Vourey E., Walling E. (2007). Dénombrement des bactéries pathogènes de la crevette. Fiche pédagogique. 18 pp.

2. Structure et programmation à 4 ans du projet DEDUCTION



Structure et programmation projet "DEDUCTION"

Préambule

Ce document est un descriptif d'un programme de travail 2007-2010 en soutien à la filière crevetteicole de Nouvelle-Calédonie, nommé projet DEDUCTION, destiné, après avis des Comités Techniques réunis les 15/5/2007 à Koné et 30/7/2007 à Nouméa, à être communiqué pour validation au Comité Mixte de l'Accord Cadre 07/1216393/C qui associe l'Ifremer à l'Etat, le Gouvernement de la Nouvelle Calédonie et les 3 Provinces du Territoire. La compilation des actions décrites dans les documents préparés par les équipes de l'Ifremer local, en association avec des équipes Ifremer métropolitaines et des organismes scientifiques extérieurs, a permis la présentation d'une ossature et d'une programmation cohérentes. Celles-ci sont construites en prenant en compte l'évaluation 2006 et les questions adressées par la profession, sous la contrainte d'un continuum d'activités pour certaines actions. L'émergence et l'affichage d'actions transversales doivent permettre également de formaliser les surfaces d'échange entre les équipes Ifremer et les différents partenaires du projet.

Ce document présente l'ossature générale du nouveau projet. Il en donne l'architecture en une tâche de communication et de transfert des connaissances répondant à la question fondamentale des échanges entre acteurs, de trois actions de recherche & développement et d'une action transversale en appui à la filière. Pour chacune de ces actions est rappelé un bilan succinct des principaux acquis issus de DESANS (2003-2006), présentés lors du séminaire de restitution *Styli* 2006. Chaque action est déclinée en tâches et sous-tâches dans un tableau dans lequel apparaissent :

- les recommandations issues du rapport d'évaluation scientifique du projet DESANS et transmis aux partenaires du projet (Etat, collectivités, profession,...),
- un rappel des questions de la profession adressées lors de *Styli* 2006 et relayées lors du premier Comité Technique 2007 comme à la faveur de premières réunions techniques régulières mises en place début 2007.
- un engagement sur les Produits attendus conditionnellement aux moyens humains et expérimentaux alloués aux différentes tâches.

Ce document programme à 4 ans est complété annuellement d'un document programme de l'année considérée qui détaille les fiches pour chaque action en tâches et sous-tâches et distingue notamment pour chacune de ces tâches ou sous-tâches les produits attendus et les conditions de transfert aux utilisateurs finaux quels qu'en soient les formes. En effet ce sont les formes des produits issus du projet comme la mise en place de conditions favorables aux transferts qui permettront ultérieurement de faciliter les différentes évaluations du projet. Ces formes peuvent être donc strictement scientifiques : publications, thèses, avancées de la connaissance, mises au point de processus expérimentaux originaux, méthodes nouvelles de traitement de données..., ou être d'ordre beaucoup plus pratique et finalisé pour des utilisateurs finaux, qui ne sont pas que les seuls producteurs de crevettes en Nouvelle Calédonie mais aussi les collectivités territoriales concernées par le développement de la filière : adaptation et exploitation opérationnelle d'outils sur le terrain, bases de données et conventions en régissant la fourniture et l'accès, indicateurs optimisant la gestion à micro ou macro-échelle, mises à disposition de fiches biotechniques et de méthodologies, élaboration d'un guide de bonnes pratiques.....

C'est pourquoi, puisque le programme se veut construit à l'interface entre recherche, développement, valorisation de la recherche et applications opérationnelles, les actions, tâches et sous tâches constitutives du programme et les produits attendus de ces actions, tâches et sous tâches ne sauraient se limiter aux seuls aspects pratiques et immédiats mis à la disposition des seuls producteurs lors de la réalisation du projet DEDUCTION sur 2007-2010.

Introduction

Le futur projet DEDUCTION "Développement Durable de la Crevetticulture, Traitement de l'Information et Observatoire du système en Nouvelle Calédonie" se veut très horizontal et pluridisciplinaire en poursuivant et développant les ouvertures scientifiques, techniques et thématiques établies à la faveur de DESANS. Son ossature devra rester simple afin d'être lisible tant en interne qu'en externe.

La proposition de nouvelle ossature du projet s'articule autour d'une tâche de communication et de transfert des connaissances répondant à la question fondamentale des échanges entre acteurs (entre les chercheurs et les partenaires locaux : profession, Provinces, Gouvernement, Haut-Commissariat), et de 4 actions : 3 actions de recherche & développement et une action transversale devant faciliter les interfaces entre la recherche et sa finalité, en intégrant les résultats "ferme" à l'échelle de la filière.

- Action 1 : L'environnement bassin – la crevette comme composante de l'agrosystème
- Action 2 : Pathogènes, infection et épidémiologie – la crevette est l'hôte du pathogène
- Action 3 : La crevette – Ecophysiologie et Génétique de l'animal
- Action 4 : Suivi des élevages et aide à la gestion des fermes et de la filière – la crevette aux différentes échelles

Cette structuration des travaux en cours et à venir facilitera les interactions entre les différentes équipes ainsi que les synthèses au niveau de l'action puis du projet. Ainsi il est primordial que des réunions d'étape pluridisciplinaires puissent permettre de confronter les résultats aux objectifs à atteindre, dans le souci d'une communication transparente et fluide entre acteurs de la recherche et utilisateurs des résultats de celle-ci, notamment en contexte de « crises ».

Le déploiement des tâches relatives aux demandes de la profession doit intégrer plusieurs contraintes :

- la cohérence interne du département et la complémentarité de ses trois implantations (Nouméa, Saint Vincent et Koné) ;
- la mobilisation de ressources internes à l'Iframer métropolitain ;
- le montage de partenariats scientifiques externes conduisant à l'identification d'un « GDR » en soutien au projet.
- L'interfaçage actif et permanent avec les partenaires utilisateurs finaux des résultats de la recherche.

Tâche de communication et de transfert des connaissances répondant à la question fondamentale des échanges entre acteurs.

Cette tâche située en « chapeau » du projet DEDUCTION explicite toute l'importance placée sur la mise en place d'outils et de processus d'échanges permanents entre acteurs permettant la concertation et la bonne communication des connaissances acquises au cours du programme.

Cette tâche a été reconnue par tous comme fondamentale.

Sa mise en œuvre s'appuiera sur :

- La mise en place des réunions des Comités Techniques qui auront à évaluer les propositions de programme à 4 ans et de programmation annuelle élaborées par Ifremer suite à l'expression de la demande de la profession et suite aux évaluations scientifiques réalisées,
- La mise en place de réunions techniques d'échange, définies en concertation sur un sujet thématique d'intérêt commun et tenues de façon régulière
- La production de fiches dites biotechniques assurant la synthèse des connaissances et des acquis sur un sujet précis
- La production d'un document de synthèse globale des connaissances aboutissant par un travail en partenariat entre professionnels et scientifiques à un guide des bonnes pratiques
- La mise en place d'une cellule de gestion de crises
- L'appui au montage, au suivi et à l'exploitation des résultats d'expérimentations vraie grandeur de « sortie de crises »,
- L'évolution du site web dédié aux activités de R&D en aquaculture de l'Iframer en Nouvelle Calédonie
- L'édition de rapports d'activité annuels et d'un bulletin de la surveillance

- Action 1 : Environnement bassin

Bilan	
Sélection pertinente des paramètres des conditions environnementales du bassin vis-à-vis des objectifs du projet. Développements méthodologiques : automatisation des mesures <i>in situ</i> (température, salinité, redox, pH, oxygène, turbidité, fluorescence), mesure biologique de la Demande en Oxygène du Sédiment et oxydation douce pour les Matières Aisément Oxydables.	

Objectif global : poursuivre la caractérisation et la quantification des facteurs devant être pris en compte dans l'évaluation du "confort écologique" des crevettes. Poursuivre l'effort de modélisation pour l'intégration des connaissances acquises, l'état des lieux des connaissances restant à acquérir, et l'étude de scénari en soutien à la gestion de l'élevage. Interactions bassin versant-bassin-lagon.

Tâches	Sous-tâches	Equipes mobilisables	Type	Recommandations évaluation	Questions Profession	Produits attendus
Caractérisation des fonds de bassin et relations avec le syndrome d'été	Expérimentations SEAFARM/St-Vincent (2005) et Aigues Marines/St-Vincent (2007)	DAC + profession + Courties (Banyuls) + MNHN + Univ. D'Angers (accueil IRD)	Poursuite	Vérification des travaux	"Indicateurs de qualité de fonds de bassin"	Publications Méthode standardisée de mesure de MAD et DOS
Colonne d'eau	Gestion des blooms phytoplanctoniques (rapports N/P, identification des successions...)	DAC Env't + Courties (Banyuls) Thèse en cours (R. Lucas)	Poursuite	Etude de la production phytoplanctonique et incidence sur les variations d'oxygène. Comparaison des performances d'élevage dans différentes conditions de gestion du phytoplancton (thèse en cours)	"Recherche algues toxiques" "Réalisation de protocoles de gestion des sols et de la colonne d'eau transférables à la profession"	Optimisation de la gestion de la production phytoplanctonique
Interface Sédiment/Colonne d'eau	Cycle des oxydants dans le sédiment : mécanismes et quantification Quantification du flux substances réduites (NH ₄ , H ₂ S) Distribution de l'oxygène dans l'"espace-vie" (1 ^{er} centimètre)	DAC Env't (JK) Thèse nov. 2007 DAC Env't (JK) Modélisation : Dymeco	Nouveau	Echanges de matériel discuss et particulier à l'interface "eau-sédiment", avec modèle de recyclage de M.O. Analyse synthétique hiérarchisant les facteurs responsables de l'évolution globale du milieu	"Réalisation de protocoles de gestion des sols et de la colonne d'eau transférables à la profession"	Indicateurs de "confort écologique" Intégration des connaissances acquises dans le modèle "Bassin"

Transferts trophiques en élevage – pour mémoire : voir sous-action ecophysiologie

Action 2 : Pathogènes, infection et épidémiologie

Bilan

Homogénéité génétique des différentes souches de *V. penaeicida* isolées lors des épisodes de mortalité successifs et lien direct entre pathologie et expression spécifique de protéines extracellulaires, hautement toxiques en injection. Variabilité dans la virulence des différentes isolats de *V. nigripulchritudo* et typologie afférente. Etablissement d'une liaison caractéristique entre pouvoir pathogène et marqueurs génétiques spécifiques. Mise au point d'une technique de typage, permettant un diagnostic rapide.

Objectif global

- Poursuivre la caractérisation des gènes de virulence des souches de *V. nigripulchritudo* associées au syndrome d'été. En déduire des outils diagnostiques pertinents et performants pour *V. penaeicida* et *V. nigripulchritudo*. Valider ces outils pour les rendre transférables aux utilisateurs.
- Contribuer aux approches pluridisciplinaires ou aux études épidémiologiques ou éco-pathologiques par l'utilisation de la pathologie expérimentale ou la mise en œuvre des outils diagnostiques développés.
- Décrire les voies d'entrée des Vibrio pathogènes *V. penaeicida* et *V. nigripulchritudo* dans la crevette et commencer à évaluer la nature et le rôle de la flore bactérienne naturelle de la crevette en grossissement.

Tâches	Sous-tâches	Équipes mobilisables	Type	Recommandations évaluation	Questions profession	Produits attendus
Pathogènes et patho-gènes	Rôle du plasmide dans la virulence de <i>V. nigripulchritudo</i>	DAC, IP Paris, LGP	Poursuite	Identification des gènes de virulence et de leur support	"Outils de diagnostics de souches pathogènes"	Publications scientifiques Connaissances nécessaires au développement d'outils diagnostiques
	Développement d'outils de détection des pathogènes utilisables sur le terrain	+ IPNC				
Pathogènes et Infection	Etude de la pathogénie, notamment des voies de pénétration des pathogènes <i>V. penaeicida</i> et <i>V. nigripulchritudo</i> dans la crevette	DAC, IP Paris, LGP, COP	Nouveau	Description des voies d'infection par les Vibrio		Identification des mécanismes d'infection
	Travaux préliminaires pour la caractérisation de la flore bactérienne naturelle dans <i>L. Styloschris</i>	DAC + ?	Nouveau	Acquisition de connaissances sur la flore bactérienne naturelle		Identification de souches bactériennes favorables et défavorables
	Infections comme outil d'études pluridisciplinaires	DAC	Foursuite			
Pathogènes et épidémiologie	Modulation de l'expression des gènes de virulence des souches pathogènes de <i>V. penaeicida</i> et <i>V. nigripulchritudo</i> par les facteurs du milieu (pH, [Ca ²⁺], ...)	DAC, IPNC, LGP	Nouveau		"Etude des facteurs et indicateurs (économiquement viables) de déclenchement des vibrioses"	Aide à l'identification des facteurs de risque
	Utilisation des outils développés pour des études pluridisciplinaires en matière d'épidémiologie ou d'éco-pathologie des souches pathogènes de <i>V. penaeicida</i> et <i>V. nigripulchritudo</i>	DAC + ?	Poursuite			

Action 3 : La crevette

Sous-action Ecophysiologie

Bilan

Identification de symptômes écophysiologiques caractéristiques de la fragilisation de l'animal en conditions « d'inconfort écologique » lié à la remise en suspension des sédiments (bioturbation), valeurs élevées d'ammoniaque, valeurs faibles d'oxygène augmentant la toxicité de l'ammoniaque.

Description des conditions physiologiques (troubles de l'osmorégulation et de la respiration, stress oxydant, carences nutritionnelles...) qui concourent à la fragilisation des animaux en saison froide (syndrome 93) : (i) Application au transfert des géniteurs en conditions de confort physiologique avec amélioration des survies et de la reproduction ; (ii) Recommandations pour limiter les mortalités en élevage durant les périodes à risque (alimentation, oxygénation).

Objectif global

- En élevage larvaire – Déterminer des critères physiologiques de qualité des larves et des post-larves : (i) gestion du risque en production, (ii) études du remplacement des antibiotiques.*
- En grossissement - caractérisation et quantification des facteurs favorables au "confort physiologique" des crevettes : (i) apports nutritionnels du fourrage, (ii) oxygénation de « l'espace vie ». – Etude des besoins énergétiques de l'animal en fonction de son développement, de son type génétique et des conditions d'élevage (saison, oxygénation).*

Tâches	Sous-tâches	Equipes mobilisables	Type	Recommandations évaluation	Questions Profession	Produits attendus
Ecophysiologie larvaire et post-larvaire	Définition d'une ligne de base biologique : Etude du métabolisme (respirat., oxydant, eq. osmotique, ...) Bâns énergétiques utilisation des probiotiques (ou antimicrobiens)	DAC + LPU/Brest + Univ. Montpellier + Roscoff + Univ. Bordeaux + Austr. (Townsville) → biomol. Thèse envisagée (D. Pham)	Nouveau	Identification de critères de confort physiologique	"Critères de qualité des larves et post-larves Remplacement des antibiotiques"	Publications scientifiques : résultats originaux Indicateurs de qualité des larves Fiabilité de la production des post-larves
Transferts tropiques en élevage	Part de l'acclimatation naturelle (meiofaune, bactéries, ...) dans la nutrition Rôle du fourrage sur la santé du cheptel	DAC (Ecophy + Envnt) + MNHN + ex-LPU/Brest Thèse envisagée (dossier 2008)	Nouveau	Priorisation de l'étude de l'apport naturel avant l'optimisation de la formulation	"Optimisation de la formulation d'aliments"	- Informations d'aide à la gestion du fourrage - Connaissances pour l'optimisation de formulations des granulés adaptées aux conditions d'élevage (biomasse, saisons)
Besoins en oxygène	Impact des variations d'oxygène : expérimentations in vitro	DAC (Ecophy + Envnt) + IRD Thèse prévue	Nouveau	Poursuite des travaux sur la charrnière environnementale équilibre	"Information étayée sur les valeurs de concentration en oxygène pour une meilleure gestion de l'élevage"	Définition de l'oxy-préférendum en conditions d'élevage
Allocation énergétique en conditions d'élevage	Test facteurs environnementaux (température, oxygène, ...) Comparaison des types génétiques	DAC/Ecophy, + Envnt + Gén. + COP + Univ. Bordeaux	Poursuite	A poursuivre et mener étude comparée entre diverses espèces de Trévidés et pour L. stylirostris entre différentes souches et hybrides		- Connaissance des besoins nutritionnels (Energie, protéines, ...) au cours du développement de l'animal et en fonction de la saison. - Identification de types génétiques plus "économiques"

Sous-action génétique

Bilan

La souche Calédonie possède une diversité génétique résiduelle faible, mais un schéma de sélection simple peut encore générer une amélioration lente mais significative de la survie en condition hivernale. Dans le cadre de la sélection expérimentale pratiquée, des marqueurs de résistance potentiels ont été identifiés et il reste à développer une technique d'utilisation de ces marqueurs applicable sur le terrain.

L'introduction de la souche Hawaii et la production d'hybrides Calédonie x Hawaii a permis de mettre en évidence un effet d'hétérosis entre souches significatif pour la croissance (+ 25-30% par rapport à la souche calédonienne), et une tendance équivalente sur la survie en infection expérimentale et en bassins (+ 15-20% d'animaux survivants en plus par rapport à la souche calédonienne). Ces résultats ne concernent qu'une année de testage et doivent dans tous les cas être vérifiés.

Objectif global

Compte tenu des résultats très encourageants obtenus à partir de la souche hawaii, la première priorité est leur confirmation sur une seconde année de testage, et de caractériser les hybrides sur d'autres caractères d'intérêt en particulier les caractères physiologiques liés à l'efficacité alimentaire.

En parallèle, les éléments utiles à la définition par les producteurs d'une stratégie de conservation et d'exploitation de la souche hawaii seront réunis. Dans ce cadre, les modalités de production de géniteurs de souche Hawaii seront étudiées.

Enfin, une approche d'amélioration génétique par sélection (assistée ou non par des marqueurs développés à partir des résultats obtenus au cours de DESANS I, sera envisagée, a priori au sein d'une population composite, dans une optique de développement sur le plus long terme. En fonction des moyens techniques disponibles, elle pourrait inclure la caractérisation de la lignée déjà sélectionnée sur un critère de survie aux épisodes de Syndrome 93.

Tâches	Sous-tâches	Equipes mobilisables	Type	Recommandations évaluation	Questions Profession	Produits attendus
Conservation et exploitation de la diversité génétique disponible	Effet des conditions d'élevage sur la reproduction des différents types génétiques (Hawaii, Calédonie et hybrides)	DAC/Gén. + Ecos. + Zootech.	Poursuite	Importance de la conservation des ressources génétiques disponibles	"Définition du mode optimal de conservation de la souche"	Protocole d'élevage des géniteurs hawaïens
	Conservation du statut sanitaire et génétique des souches de crevette	DAC/Gén. + SYSAF + UPRA	Poursuite		"Définition du mode optimal de diffusion aux écloseries privées"	Bilan de l'expérience acquise avec la quarantaine Amélioration des techniques de prégrossissement Éléments permettant à la profession de définir une stratégie de conservation et d'exploitation Protocole de réfrigération
	Réfrigération du sperme	DAC/Gén. + Ecos. + COP	Poursuite			
Composantes de l'hétérosis entre souches	Etude de la croissance et de la survie en présence de pathogènes	DAC/Gén. + Zootech. + Patho.	Poursuite	Définition d'un schéma d'amélioration à long terme de la survie	"Confirmation des performances du croisement des souches"	Confirmation résultats précédents Évaluation d'un éventuel effet compétition
	Caractérisation physiologique des différents types génétiques – voir sous-action physiologie		Nouveau		"Définition du mode optimal de diffusion aux écloseries privées"	Effet du sens du croisement
Amélioration génétique par sélection	Validation en situation d'élevage	UPRA + DAC/Gén. + Kone	Nouveau			Confirmation à grande échelle des travaux de laboratoire
	Validation de méthodes d'évaluation du niveau d'expression de gènes de résistance	ex-DRIM + DAC/Gén. + Patho.	Poursuite		"Sélection sur critères de survie"	Outil d'évaluation du potentiel de survie individuelle
	Caractérisation de la lignée de sélection pour le syndrome 93	DAC/Gén. + Ecos. + Zootech. + Patho. + ex-DRIM (EB) + Physio.	Nouveau	Caractériser la robustesse de la résistance et identifier les paramètres physiologiques affectés Vérifier l'absence d'éventuelles réponses négatives vis-à-vis d'autres critères	"Critères de survie au syndrome 93"	Évaluation des réponses liées à la sélection (croissance, résistance à V. nigripulchritus) Critères physiologiques de sélection Gènes marqueurs de résistance
	Sélection expérimentale au sein de la population composite (brassage Calédonie-Hawaii)	DAC/Gén. + Patho. + Zootech. + ex-DRIM + GFA	Nouveau	Définition de critères de sélection pour les caractères de survie, croissance et efficacité alimentaire permettant d'orienter le choix par les professionnels des schémas d'amélioration à mettre en oeuvre	"Sélection sur critères croissance et survie"	Validation de la sélection précoce pour la croissance Performances comparées entre hybrides F1 et population composite Sélection assistée par marqueurs

Action 4 : Suivi des élevages et aide à la gestion des fermes et de la filière

Bilan

Développement et mise en place de la base de données Stylog répondant aux objectifs (i) d'aide à la recherche (ii) de suivi des filières (iii) d'aide à la décision. La structure repose sur trois modules (i) ferme (ii) éclosérie (iii) veille sanitaire.

Renforcement de la coordination avec la DAVAR (Direction des Affaires Vétérinaires, Alimentaires et Rurales) pour contribuer à une meilleure surveillance sanitaire des élevages.

Objectif global

L'action 4 est une action transversale permettant :

- L'appui méthodologique au projet (plans d'expérience, traitement statistique, modélisation numérique)
- La veille clinique en lien avec les équipes de recherche pour la compréhension des événements
- La gestion et la valorisation des données des bases de données "fermes" (incluant les volets zootechnique et sanitaire), au travers notamment du développement d'indicateurs en appui à la profession
- La communication des résultats des recherches et le transfert des connaissances
- L'intégration des résultats dans le contexte global de gestion durable de l'activité, du point de vue de la socio-économie (aide aux plans de gestion) aussi bien que du point de vue environnemental à toutes les échelles
- La recherche et la mise en œuvre de nouveaux outils d'observation dans le contexte de la gestion intégrée de la zone côtière (GIZC)

Tâches	Sous-tâches	Equipes mobilisables	T _{type}	Recommandations évaluation	Questions Profession	Produits attendus
Soutien méthodologique au projet	protocoles expérimentaux, analyses statistiques et modélisation numérique	DAC/Koné + équipes métr. (Dyneo/Brest, CRELA...)	Nouveau	Valorisation des travaux Développement d'indicateurs		Formations DAC
Veille clinique (sous réserve de Convention avec la DAVAR)	Optimisation du système (interventions dont appui de la profession, analyses et diagnostics)	DAC + DAVAR + profession	Poursuite		Demande de réactivité accrue	Meilleure couverture et gain en précision et fiabilité du diagnostic (échantillonnage et méthodologies)
Base de données	Administration : pérennisation de l'utilisation de la base Stylog	DAC/Koné	Poursuite Nouveau	Outils de validation et qualification des données (rasçabilité)	[Susciter la formalisation des spécifications]	Régularité dans la maintenance et l'évolution (dont modules de qualification des données) de la base en cohérence avec les spécifications des utilisateurs Convention avec le CFA avec groupe technique suite de spécifications
	Développement du module "veille sanitaire"	DAC/Koné + DAVAR	Poursuite	Définition de cahiers des charges définitifs	Edition de rapports sur les épisodes de mortalité	Rapports d'intervention
	Audit du système d'information	IDM Brest + Dyneo/Océlogies	Nouveau			Optimisation du système d'information
Exploitation des données	Elaboration de produits Stylog (indicateurs, bulletins...)	DAC + profession	Poursuite	Définition de "zones à risque" à partir d'indicateurs de "confort écologique", de "bien-être physiologique" et de risque pathogène.	"Inventaire des facteurs déclenchant, favorisant, aggravant les syndromes"	Indicateurs de "conforts écologique et physiologique" et hiérarchisation des risques
	Approche multifactorielle – intégration des données	DAC	Poursuite	Utilisation de modèles statistiques décisionnels robustes (estimation de scores, arbres de décision...).		Fournitures d'outils d'aide à la décision conditionnellement à la qualité des données acquises
Communication et transfert des connaissances	Produits de synthèse des résultats de l'activité du DAC (WEB, SIG...)	DAC + ?	Nouveau	Elaboration, en concertation avec les partenaires, d'un plan de valorisation	[Demande à finaliser dans le cadre d'un groupe technique]	Produits de synthèse
	Elaboration d'un ouvrage sur l'Etat de l'art de la crevetteculture en NC	DAC	Nouveau		Guide des bonnes pratiques d'élevage	Ouvrage technico scientifique « Etat de l'art » ; Fiches biotechniques sur thèmes principaux zootechnie issues de l'ouvrage ; participation à la rédaction du manuel des bonnes pratiques sous l'égide du CFA, provinces, ERPA
	Elaboration d'un Manuel des bonnes pratiques	Dac+profession +ERPA+Provincés	Nouveau			

Tâches	Sous-tâches	Equipes mobilisables	T _{type}	Recommandations évaluation	Questions Profession	Produits attendus
Nouveaux outils d'observation et d'intégration à différentes échelles spatiales (bassin, ferme, lagon,...)	Faisabilité de l'instrumentation des bassins avec expérience pilote et de la qualité des eaux lagunaires	DAC	Nouveau		[Demande à finaliser]	Mise au point méthodologique avant transfert en lien avec les indicateurs à retenir
	Impact de la production sur l'écosystème dans le cadre de protocoles standardisés	DAC+INRA +programme Ifremer "Durabilité"	Nouveau		Recherche de systèmes de production adaptés au développement durable (demande Institutions)	Contribution au dossier "durabilité"
	Impact potentiel des effluents de la crevetteculture sur la mangrove	ZONECO Projet MCM (UNC, IRD, DAC)	Nouveau		Evaluation de l'impact de l'activité (Stylé 2003)	Indicateurs d'influence de la crevetteculture
Interactions BV/Bassin/mangrove/lagon	Impact potentiel du bassin sur le lagon	DAC Env	Poursuite			
	Impact potentiel du BV sur la qualité des eaux d'entrée	DAC Env	Nouveau		Evaluation de la qualité des eaux en portage : facteurs de risque	Critères de qualité des eaux d'entrée

Macro-planning 2007-2010

		Tâches	Sous-tâches	2007	2008	2009	2010
La question fondamentale des échanges entre acteurs		Communication et transfert des connaissances	Produits de synthèse des résultats du projet				
	Environnement et Bassin	Caractérisation des fonds de bassin et relations avec le syndrome d'été	Expérimentations SEAFARM/St-Vincent (2008) et Algues Marines/St-Vincent (2007)				
Colonne d'eau		Gestion des blooms phytoplanktoniques (rapports N/P, identification des successions, ...)					
Pathogènes, dépenses et infections	Interface Sédiment-Colonne d'eau	Cycle des oxydants dans le sédiment : mécanismes et quantification					
		Quantification du flux substrates réduites (NH ₄ ⁺ , S ²⁻)					
		Distribution de l'oxygène dans l'"espace-vert" (1 ^{er} centimètre)					
		Rôle du plasmide dans la virulence de <i>V. anguillarum</i>					
Pathogènes et infection		Développement et validation d'outils de détection des pathogènes utilisables sur le terrain					
		Étude de la pathogénie notamment des voies de pénétration des pathogènes <i>V. parvula</i> et <i>V. anguillarum</i> dans la crevette					
		Travaux préliminaires pour la caractérisation de la flore bactérienne naturelle dans <i>L. Styracina</i>					
Pathogènes et épidémiologie		Modulation de l'expression des gènes de virulence des souches pathogènes de <i>V. parvula</i> et <i>V. anguillarum</i> par les facteurs du milieu (pH, [Ca ²⁺]...)					
		Utilisation des outils développés pour des études pluridisciplinaires en matière d'épidémiologie ou d'éco-pathologie des souches pathogènes de <i>V. parvula</i> et <i>V. anguillarum</i>					
La crevette	Écophysiologie	Écophysiologie larvaire et post-larvaire	Définition d'une ligne de base biologique : étude du métabolisme (respiration, oxydant, éq. osmotique, ...) - Bilans énergétiques				
		Probiotiques en grossissement	Utilisation des probiotiques (ou entomicrobiens)				
			<i>S. cerevisiae</i> var Bouardi				
		Transferts trophiques en élevage	Part de l'alimentation naturelle (méiofaune, bactéries, ...) dans le nutrition				
			Rôle du fourrage sur la santé du cheptel				
	Génétique	Alocation énergétique en conditions d'élevage	Impact des variations d'oxygène - expérimentations <i>in vitro</i>				
			Test facteurs environnementaux (température, oxygène, ...)				
		Conservation et exploitation de la diversité génétique disponible	Comparaison de types génétiques				
			Reproduction comparée des différents types : Hawaii - Calédonie				
			Génétiques (Hawaii, Calédonie et hybrides)				
Vieilles et Nouveaux Généralistes ou Spécialistes	Soutien méthodologique	Conservation du statut sanitaire et génétique des souches de crevettes	Hybrides				
			Refrigeration du sperme				
	Composantes de l'hétéroscie entre souches		Etude de la croissance et de la survie en présence de pathogènes				
			Validation des performances zootechniques des hybrides entre souches en situation d'élevage				
	Amélioration génétique par sélection		Validation de méthodes d'évaluation du niveau d'expression de gènes effecteurs de l'immunité				
			Caractérisation de la lignée de sélection pour le syndrome IS				
	Vieille clinique		Sélection expérimentale au sein de la population composite (croisement Calédonie-Hawaii)				
			Protocoles expérimentaux, analyses statistiques et modélisation numérique				
	Base de données		Optimisation du système (interventions dont appui de la profession, analyses et diagnostics)				
			Audit du système d'information et convention multipartenaires				
Nouveaux outils d'observation et d'intégration à différentes échelles spatiales (bassin, ferme, lagon, ...)		Administration - pérennisation de l'utilisation de la base Stylog					
		Développement du module "veille clinique"					
		Exploitation des données	Elaboration de produits Stylog et Approche multifactorielle				
		Nouveaux outils d'observation et d'intégration à différentes échelles spatiales (bassin, ferme, lagon, ...)	Faisabilité de l'instrumentation des bassins avec expérience pilote et de la qualité des eaux lagunaires				
Interactions BV/Bassin/mangrove/lagon		Impact de la production sur l'écosystème dans le cadre de protocoles standardisés					
		Impact potentiel des effluents de la crevette/culture sur la mangrove (ZONECO)					
		Impact potentiel du bassin sur le lagon					
		Impact potentiel du BV sur la qualité des eaux d'entrée					

3. Fiches actions 2009 du projet DÉDUCTION



Centre du Pacifique
Département LEAD
BP 2059 – 98846 Nouméa Cedex
Nouvelle-Calédonie

Mars 2009

Coord. B. Beliaeff, Chef de Projet

Projet « DEDUCTION »

DEveloppement DURable de la Crevetticulture,
Traitement de l'Information et Observatoire
du système en Nouvelle-Calédonie »

Programmation annuelle :
Recueil des Fiches Actions 2009

SYNTHESE DE LA PROGRAMMATION 2009

Rappel :

DESANS (Défi Santé *Stylostris*) a permis de mieux comprendre le réseau de causes entre les différents facteurs de risque qui sont susceptibles d'engendrer les vibrioses de type *syndrome d'hiver* ou 93 et *syndrome d'été*. La synthèse réalisée lors de *Styli 2006*, concluant le projet DESANS, a mis en exergue l'importance du confort écologique dans les bassins qui détermine le bon état physiologique des animaux leur offrant ainsi une plus grande résistance vis-à-vis des pathogènes. Les principaux facteurs de risque environnementaux sont, dans le cas du syndrome 93, les variations brutales de température à la limite basse du *preferendum* thermique de la crevette et dans celui du syndrome d'été les conditions d'instabilité du milieu d'élevage et notamment de la production phytoplanktonique.

La poursuite des actions relatives à l'explication des processus régissant la qualité du milieu dans l'environnement « bassin » concernent trois actions :

- Les travaux de thèse de Ronan Lucas sur l'influence de la production phytoplanktonique sur les performances d'élevage [1.1] ;
- La fin des analyses portant sur la caractérisation des fonds de bassin et la valorisation des résultats afférents sur la période 2009-2010 ; un renfort interne a pu être identifié pour venir à bout de la charge analytique [1.2] ;
- Le démarrage de la thèse (à confirmer à l'automne) portant sur l'identification et la quantification des flux à l'interface eau-sédiment en collaboration avec le département Biogéochimie et écotoxicologie de Nantes ; il s'agit d'une pièce importante du puzzle, qui devrait permettre d'affiner la modélisation du fonctionnement du bassin [1.3].

Concernant la **pathologie**, une recherche plus fondamentale est poursuivie sur l'étude de la virulence des vibrios en collaboration avec l'Institut Pasteur de Nouméa [2.1] : il s'agit d'une recherche importante dans la mesure où d'une part elle permettrait d'acquérir des connaissances supplémentaires sur le déterminisme de la virulence des pathogènes, d'autre part les éventuelles découvertes pourraient rejaillir sur d'autres thématiques. Le travail sur les modalités d'infection est également maintenu dans le même esprit [2.2]. Concernant les bassins on s'attachera à valoriser le travail de stage réalisé sur les assecs en application des outils de détection [2.3].

Deux nouvelles tâches ont été identifiées pour 2009 :

- La recherche de bactéries probiotiques en élevage larvaire [2.4].
- La mise au point d'une technique ARN interférence pour prévenir les infections virales à IHHN. Cette activité fait appel aux outils les plus récents de la biologie moléculaire ce qui va conduire aux développements de collaboration avec des laboratoires étrangers. Ceci devrait déboucher sur des propositions de solutions prophylactiques aux infections virales à l'IHHN [2.5].

- La caractérisation des besoins énergétiques des larves et post-larves et les conséquences à en tirer pour leur nutrition [3A1a].
- L'étude de la mise en place des structures d'osmorégulation et de respiration (œufs à PL) [3A1c].
- L'étude de la mise en place des défenses anti-oxydantes et du stress oxydatif chez les larves et les post-larves chez larves et PL [3A1d].
- La détermination de l'influence des conditions d'élevage et de la nutrition du géniteur sur la reproduction et la qualité des nauplii, en collaboration avec le Centre Ifremer du Pacifique [3A1b].
- La collaboration avec les pathologistes pour l'identification de probiotiques en élevage larvaire [3A1e].

A noter que ces activités constituent l'ossature du travail de thèse de D. Pham, démarrée en 2008.

Les expérimentations sur les probiotiques en élevage sont terminées et font place à la valorisation des résultats obtenus en particulier dans le cadre de la thèse de M. Castex [3A2].

Le programme génétique « souche hawaïenne » a connu un coup d'arrêt fin 2008 suite à l'éradication de la souche eu égard à sa plus grande sensibilité au virus IHNN et par conséquent au risque accru de dissémination à la souche calédonienne. La valorisation des résultats obtenus va se poursuivre [3B1 et 3B4]. Les travaux prévus en génétique concerneront la définition d'un protocole de réfrigération du sperme, utilisable en conservation de souches ou en réintroduction de variabilité génétique [3B3]. La collaboration avec l'équipe BOME de Montpellier se poursuit avec comme annoncée en 2008 lors de la venue de J. de Lorgeril, l'étude de la stabilité temporelle de l'expression des gènes de résistances en intra- et intermue [3B6].

Le « suivi des élevages » concerne naturellement la base Stylog avec l'optimisation du système « Veille clinique » [4.1], la tâche récurrente d'administration, évolution et maintenance [4.2] et le développement de produits d'exploitation de la base [4.3]. Ces différentes actions devront absolument être réalisées en concertation avec le GFA, via une éventuelle Cellule Technique.

Enfin et compte tenu des événements ayant impacté la profession, nous avons rédigé une fiche sur l'initialisation d'une démarche de biosécurisation à Saint-Vincent, qui devrait servir de plate-forme pour la mise en place de mesures de biosécurité dans les structures de la filière.

N.B.

Dans l'objectif d'une évaluation de la charge (moyens humains) représentée par chacune des fiches, une qualification est proposée et attribuée en regard du n° de la fiche correspondante :

- Charge légère * (< 15 % de la charge de l'équipe considérée)
- Charge modérée ** (entre 15 et 25 % de la charge de l'équipe considérée)
- Lourde charge *** (> 25 % de la charge de l'équipe considérée)

Action transversale : Communication et Valorisation (1 fiche) – resp. B. Beliaeff

Communication et Valorisation **	
Tâche : Communication et transfert des connaissances	Sous-tâche(s) : Produits de synthèse des résultats du projet
Descriptif : Outre les rencontres techniques conduites dans le cadre de la marche du Comité Technique il s'agit de l'organisation d'échanges pérennes fréquents et systématiques dans les deux sens, facilitant le transfert des connaissances, l'anticipation de la gestion de « crises » et l'adaptation du porter à connaissance aux différents types d'interlocuteurs (professionnels, collectivités, état, partenaires scientifiques et grand public).	
Produits attendus : <ul style="list-style-type: none"> • T. Bilan annuel intégré dans le bilan 2007-2010 • T Veille technique et restitution d'éléments de cette veille • T Contribution Ifremer au rapport GFA sur les opérations « sortie de crise » Aigue Marine 2 • T Evolution et enrichissement du site web du DAC • T Rapport activité annuel Pour mémoire fiches biotechniques citées dans les autres actions	Conditions de transfert : Participations à des réunions techniques mixtes régulières visant à « mettre à plat des questions spécifiques » et contribuer à la rédaction d'un manuel des bonnes pratiques (profession/collectivités territoriales/Ifremer) Mise en place des échanges à la faveur de Comité(s) Technique(s) Résultats scientifiques marquants autour des réunions techniques Clarification du positionnement de la plate-forme technique Aigue Marine vis-à-vis des résultats de la recherche
Lien avec autres tâches : Lien avec toutes autres tâches des 4 actions du projet.	

Action 1 – Environnement Bassin (3 fiches) – resp. L. Della Patrona

Action 1 : Environnement-bassin Fiche 1.1 *	
Tâche : Colonne d'eau	Sous-tâche(s) : Gestion des blooms phytoplanctoniques (rapports N/P, identification des successions,...)
Descriptif : Etude de la production phytoplanctonique et incidence sur les variations d'oxygène. Comparaison des performances d'élevage dans différentes conditions de gestion du phytoplancton (différents types de fertilisation minérale ou non ; thèse en cours de R. Lucas – dernière année : analyse des données et rédaction).	
Produits attendus : T Participation à la fiche technique 6 - Le renouvellement d'eau et la gestion de la colonne d'eau, à partir de la Synthèse des connaissances (Della Patrona & Brun) R article(s) soumis à revue à comité de lecture	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches :	
Commentaires : L'analyse par cytométrie en flux et la détermination spécifique des micro algues seront réalisées au laboratoire Arago de Banyuls. Pas de date prévue encore pour la soutenance de thèse qui devra intervenir avant la fin 2010.	

Action 1 : Environnement-bassin Fiche 1.2 ***	
Tâche : Caractérisation des fonds de bassin et relations avec le syndrome d'été	Sous-tâche(s) : Expérimentations SEAFARM/St-Vincent (2006) et Aigue Marine/St-Vincent (2007)
Descriptif : Série d'expérimentations visant à démontrer le rôle de l'interface eau-sédiment dans le déclenchement du syndrome d'été sur une ferme présentant un niveau d'eutrophisation très important, une seconde exprimant une faible productivité globale, les deux en comparaison avec un bassin témoin du DAC.	
Produits attendus : R et T Rapport technique + Fiche Biotechnique sur les évolutions comparées de paramètres biogéochimiques sédimentaires en milieu dystrophe (reconduit pour cause de retard pris dans les analyses) R et T Validation d'indicateurs de dysfonctionnement de l'IES (reconduit pour cause de retard pris dans les analyses) R et T Validation des foraminifères comme indicateurs d'état de fonds de bassin <ul style="list-style-type: none"> • 3 publications T Fourniture planche identification foraminifères aux éleveurs.	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches : Thèse sur les échanges à l'EIS (1.3)	
Commentaires : Du fait du travail important de valorisation à mener les produits attendus courent sur la période 2009-2010	

Action 1 : Environnement-bassin	
Fiche 1.3 *	
Tâche : Amélioration des connaissances de l'interface eau-sédiment en bassins de crevettes.	Sous-tâche(s) :
Descriptif : Ce travail vise à poursuivre l'élucidation des processus régissant la qualité de l'environnement bassin. Il s'agira de décrire les interactions biogéochimiques entre le sédiment et la colonne d'eau (CE) en milieu dystrophe, c'est-à-dire surenrichi, et en particulier le rôle de l'interface eau-sédiment (IES). Ce travail vise à quantifier expérimentalement au niveau de cet interface les échanges d'oxygène (et d'autres espèces chimiques) et à les modéliser numériquement. Les expérimentations seront conduites dans des mésocosmes (bacs) situés à Ifremer/Station de St-Vincent et incluront l'étude, à l'IES, des flux d'oxygène, S, N, P, Fe, et Mn, en fonction notamment de la matière organique (MO) sédimentaire et de la bioturbation (qui seront contrôlées), et de la température. Ils seront quantifiés en utilisant des cloches benthiques et des carottages. Les données seront utilisées pour calibrer la réponse d'un modèle numérique, qui devrait permettre de définir les enveloppes des conditions de température, d'apport de MO, d'oxygène dissous de la CE qui permettent de garder l'IES en régime oxique (oxygène en concentration suffisante), et de diminuer les risques d'hypoxie (sous-oxygénation) de la colonne d'eau.	
Produits attendus 2010 et +: R et T Utilisation des connaissances acquises expérimentalement pour rationaliser de « bonnes pratiques » d'élevage crevetticole, pour ce qui est de l'influence du sédiment des bassins sur la qualité du milieu de vie des crevettes, la colonne d'eau.	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches :	
Commentaires : « « Caractérisation du couplage biogéochimique entre sédiments et colonne d'eau en milieu dystrophe : cas des bassins d'élevage de crevettes en Nouvelle-Calédonie ». Thèse Co-encadrement avec J. Knoery (Directeur dépt. Biogéochimie et Ecotoxicologie IFREMER, centre de Nantes) – participation de H. Lemonnier et L. Della Patrona	

Action 2 – Pathogènes, Infections, Epidémiologie (4 fiches) – resp. Y. Labreuche

Action 2 : Pathogènes, infections, épidémiologie	
Fiche 2.1 *	
Tâche : PATHOGENES	Sous-tâche(s) : Virulence des bactéries pathogènes
Descriptif : Les exotoxines de <i>Vibrio penaeicida</i> et le plasmide de <i>Vibrio nigripulchritudo</i> présentant des similitudes avec des pathogènes du corail sont étudiés afin de décrire les facteurs de virulence de ces pathogènes. L'équipe PIE participe à l'encadrement d'un VCAT sur ce sujet et apporte un soutien technique pour la collection de souches de vibrions pathogènes de la crevette et du corail, et réalise les infections expérimentales.	
Produits attendus 2009-2010 : R Publication(s) scientifique(s) T Communication à la profession	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches :	
Commentaires : Le VCAT est positionné à l'Institut Pasteur NC, en relation avec PIE et Frédérique le Roux, chercheur IFREMER détachée à l'Institut Pasteur Paris et en 2009 à l'Université de Harvard (USA) qui continue le travail de Yann Reynaud sur <i>V. nigripulchritudo</i> , avec une autre thèse hors DEDUCTION. Action sans conséquences directes sur la profession mais acquisition de connaissances fondamentales sur les pathologies.	

Action 2 : Pathogènes, infections, épidémiologie	
Fiche 2.2 **	
Tâche : INFECTION	Sous-tâche(s) : Voies d'entrée du pathogène <i>Vibrio penaeicida</i> dans la crevette adulte
Descriptif : Il s'agit de décrire le processus infectieux en suivant le pathogène dans les différents organes de l'animal suite à une infection expérimentale par baignade. La technique choisie est de l'hybridation <i>in situ</i> . Cette technique permet de caractériser une espèce bactérienne sur une préparation histologique grâce à une sonde nucléique. Les lames sont analysées par microscopie.	
Produits attendus 2009-2010 : R Publication scientifique T Réunion technique.	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches : Les informations recueillies sur le processus infectieux seront utiles à terme pour expliquer l'action des probiotiques utilisés.	
Commentaires :	

Action 2 : Pathogènes, infections, épidémiologie	
Fiche 2.3 *	
Tâche : PATHOGENES et EPIDEMIOLOGIE	Sous-tâche(s) : Utilisation des outils de détection des pathogènes sur le terrain
Descriptif : Etudier l'évolution de la répartition horizontale des pathogènes <i>V. nigripulchritudo</i> dans un bassin au cours d'un assèchement afin de cartographier les bactéries pathogènes et les bactéries totales dans le sédiment. Mise en place d'un protocole normalisé d'échantillonnage pour l'analyse bactériologique des bassins.	
Produits attendus : R et T Valorisation des résultats obtenus : rapport de stage Marion Charme/poster/réunion technique T Détermination des niveaux de risque bactériologique d'un bassin à sec, avant et après élevage.	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches : Veille clinique 4.1	
Commentaires :	

Action : Pathogènes, infections, épidémiologie	
Fiche 2.5 ***	
Tâche : PATHOGENES	Sous-tâche(s) : mise au point d'une technique ARN interférence pour prévenir les infections virales à IHHN
<p>Descriptif : des travaux récents ont montré que l'introduction, par injection dans la crevette, d'ARN double brins (ARNdb) spécifiques d'un gène viral (WSSV ou YHV) permettait de prévenir la réplication du virus correspondant et par conséquent le déclenchement de mortalités. Ce phénomène repose sur un mécanisme naturel, décrit chez de nombreux organismes dont les crevettes pénéides, et désigné ARN interférence.</p> <p>Dans le cadre des problèmes d'infection virale par IHHN rencontrés chez <i>L. stylirostris</i>, l'objectif de ce projet consiste à développer une approche similaire d'ARN interférence comme moyen thérapeutique.</p> <p>* cette technique n'a jamais été appliquée chez <i>L. stylirostris</i> et dans le cas du virus IHHN. Dans un premier temps, il s'agira de valider la faisabilité de cette approche. Pour cela, nous nous proposons d'injecter des crevettes par une suspension d'ARNdb spécifiques d'IHHN. Après 24-48 h, les animaux seront soumis à une infection expérimentale par IHHN, et des mesures de la charge virale ainsi qu'un suivi des taux de mortalité seront effectués. Cette étape permettra de valider, chez <i>L. stylirostris</i>, l'approche ARN interférence comme un outil de prévention d'une infection à IHHN.</p> <p>* L'injection d'ARNdb à chaque animal apparaissant irréalisable à l'échelle d'une ferme ou d'une éclosion, nous chercherons par la suite à mettre au point un moyen d'administration de ces ARNdb aux crevettes par voie orale, à travers l'alimentation notamment.</p>	
Produits attendus 2009-2010 :	Conditions de transfert :
T Protocole de préparation des géniteurs en éclosion R Publication(s) scientifique(s) T Communication à la profession	
Lien avec autres tâches :	
<p>Commentaires : Nécessité de réaliser des tests d'infection expérimentale par IHHN sur des animaux sains, c'est-à-dire non-porteurs du virus. Ce travail pourra se faire en collaboration avec l'équipe du Pr Nigel Preston du CSIRO (Australie), ainsi qu'avec le laboratoire d'immunologie de l'Université de Médecine de Caroline du Sud (USA).</p>	

Action 3 : La Crevette – resp. L. Chim

3A : Ecophysiologie (4 fiches) – resp. L. Chim

Action 3A : La crevette Ecophysiologie	
Fiche 3A.1a*	
Tâche : Ecophysiologie larvaire et post-larvaire	Sous-tâche(s) : Besoins énergétiques des larves
<p>Descriptif : L'alimentation larvaire est essentiellement composée d'artemia ; cependant, la disponibilité, la qualité et le statut sanitaire des proies vivantes peuvent être variables. D'où la nécessité :</p> <ul style="list-style-type: none"> (i) De caractériser les besoins énergétiques des larves et des post-larves afin d'optimiser les doses en artemia (ii) Puis, de remplacer tout ou partie des proies vivantes par de l'aliment inerte (contrôle des ingrédients, maîtrise de la qualité sanitaire) 	
Produits attendus 2009-2010 :	Conditions de transfert :
- T Protocole d'alimentation larvaire - R selon les résultats publications scientifiques sur l'évolution des besoins énergétiques au cours du développement larvaire.	Fourniture par entreprise privée de micro-particules en remplacement des artemii.
Lien avec autres tâches :	
<p>Commentaires Tâche menée dans le cadre de la Thèse D. Pham en collaboration avec Evialis/Bernaqua.</p>	

Action 3A : La crevette Ecophysiologie	
Fiche 3A.1b**	
Tâche : Ecophysiologie larvaire et post-larvaire	Sous-tâche(s) : Influence des conditions d'élevage et de la nutrition du géniteur sur la reproduction et la qualité des nauplii.
Descriptif : La production des larves est soumise à la qualité des géniteurs. Cette qualité est fonction de l'alimentation et des conditions d'élevage. Dans cette sous-tâche nous nous intéresserons : <ul style="list-style-type: none"> (i) à l'influence des antioxydants nutritionnels sur la reproduction des femelles et la qualité des œufs et des nauplii produits. (ii) A la qualité des géniteurs issus de deux systèmes d'élevage : extensif en bassin de terre et en floc. La qualité nutritionnelle du floc (antioxydants, acides gras essentiels...) et son influence sur les performances de reproduction des mâles et des femelles seront également étudiés. 	
Produits attendus : <ul style="list-style-type: none"> - T protocole d'élevage (J. Goguenheim, COP, <i>et al.</i>) + complément alimentaire pour filière géniteur. - R selon les résultats publications scientifiques (2010) sur influence (i) des antioxydants sur la reproduction (ii) les conditions d'élevage. 	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches :	
Commentaires <i>Tâche menée dans le cadre de la Thèse D. Pham en collaboration avec le COP (Jean Goguenheim). Les études de cette fiche seront effectuées en partie sur les élevages (bassin et floc) menés à Tahiti. Collaboration avec le CSIRO sur les aspects nutritionnels (D. Smith Australie)</i>	

Action 3A : La crevette Ecophysiologie	
Fiche 3A.1c*	
Tâche : Ecophysiologie larvaire et post-larvaire	Sous-tâche(s) : Mise en place des structures de l'osmorégulation et de respiration (œuf à PL)
Descriptif : Les élevages larvaires se font en conditions de salinité, de température et d'oxygénation non maîtrisées et ou non contrôlées. Or les animaux dans les stades précoces n'auraient pas acquis leur pleine capacité respiratoire et osmorégulatrice et pourraient être de ce fait fragilisés face aux fluctuations de ces paramètres. Pour répondre à cette question nous étudierons par des méthodes d'histologie, de respirométrie et d'osmométrie la mise en place des fonctions de respiration et d'osmorégulation au cours du développement larvaire.	
Produits attendus 2009-2010: <ul style="list-style-type: none"> - T Conditions optimales de température et de salinité en élevage larvaire - R selon les résultats publications scientifiques sur ontogénèse de la respiration et d'osmorégulation chez la crevette. 	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches :	
Commentaires <i>Tâche menée dans le cadre de la Thèse D. Pham en collaboration avec l'UMR5171 (Professeur Charmantier)</i>	

Action 3A : La crevette - Ecophysiologie Fiche 3A.2*	
Tâche : Probiotique en grossissement	Sous-tâche(s) : <i>Pediococcus acidilactici</i> (BACTOCELL®)
Descriptif : <ul style="list-style-type: none"> - Influence du probiotique sur la croissance et l'utilisation de l'aliment (digestion, allocation énergétique) - Effet d'une infection expérimentale sur le stress oxydant des animaux et rôle protecteur du probiotique. - Etude par une méthode biomoléculaire (DGGE) de l'influence du probiotique sur les communautés bactériennes du tube digestif des crevettes. 	
Produits attendus : <ul style="list-style-type: none"> - T Quantification des gains (survie, croissance et transformation aliment) apportés par le probiotique. - R 4 Publications : (i) Probiotique et défenses antioxydantes (ii) Rôle du probiotique sur la nutrition, la flore bactérienne du TD et la croissance (iii) Effet probiotique chez animaux soumis à une infection expérimentale par <i>V. nigripulchritudo</i> (iv) Effet protecteur du probiotique vis à vis du syndrome 93. - R Thèse de Doctorat (avril 2009) - T Fiche bio (2009) : Synthèse des résultats obtenus avec <i>Pediococcus</i>. 	Conditions de transfert : <ul style="list-style-type: none"> - Le produit doit être enregistré au niveau européen (en cours). - Les provendes devront adapter la technique d'incorporation du probiotique (bactérie vivante) à l'échelle industrielle (enrobage avec huile).
Lien avec autres tâches :	
Commentaires : Le travail de biologie moléculaire (DGGE) se fait en relation avec le laboratoire IFREMER de Brest (J.-L. Nicolas et M. Garnier). La technique pourrait à terme être complètement réalisable au LEAD, par les équipes Ecophysiologie & PIE. <i>Seul l'aliment de référence du laboratoire produit dans l'atelier de St Vincent est utilisé.</i>	

3B : Génétique (6 fiches) – resp. E. Goyard

Action 3B : La Crevette - Génétique Fiche 3B.1*	
Tâche : Conservation et exploitation de la diversité génétique disponible	Sous-tâche(s) : Reproduction comparée des différents types génétiques (Hawaii, Calédonie et hybrides)
Descriptif : Valorisation des données sur les reproductions obtenues avant éradication,	
Produits attendus : <ul style="list-style-type: none"> ➢ T rapport final première introduction Hawaii 	Conditions de transfert : <ul style="list-style-type: none"> - réintroduction de la souche hawaii (ou autre)
Lien avec autres tâches :	
Commentaires :	

Action 3B : La Crevette - Génétique Fiche 3B.2 *	
Tâche : Conservation et exploitation de la diversité génétique disponible	Sous-tâche(s) : Conservation du statut sanitaire et génétique des souches de crevettes
Descriptif : Sous-tâche transférée dans la nouvelle fiche biosécurité de l'action 4	
Produits attendus : ➤ .	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches :	
Commentaires :	

Action 3B : La Crevette Fiche 3B.3 *	
Tâche : Conservation et exploitation de la diversité génétique disponible	Sous-tâche(s) : Réfrigération du sperme
Descriptif : <p>Cette tâche n'a pu progresser en 2008 compte tenu des problèmes de qualité des élevages à Saint-Vincent.</p> <p>L'objectif est de pouvoir utiliser le sperme de crevettes pendant plusieurs jours pour faciliter les croisements.</p> <p>A partir des données fournies par l'équipe de Tahiti, le milieu de conservation devra être précisé (dose et type d'antibiotique) et le type de matériel à conserver devra être confirmé (ampoule spermatique, spermatophore ou boule de sperme).</p>	
Produits attendus : ➤ T Protocole de réfrigération utilisable en conservation de souches ou en réintroduction de variabilité génétique	Conditions de transfert : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Efficacité de la méthode suffisamment élevée pour être pratiquée à l'échelle industrielle ▪ Eventuelle introduction de sang neuf par la voie mâle si pas de possibilité de réintroduire une souche domestiquée (Hawaii ou autre)
Lien avec autres tâches : Si la technique est efficace, elle facilitera les plans de croisements à mettre en œuvre, tant sur le plan expérimental que sur celui de la conservation et limitera les transferts d'animaux	
Commentaires : Le travail est à reprendre en relation avec Tahiti.	

Action 3B : La Crevette - Génétique Fiche 3B.4 *	
Tâche : Composantes de l'hétérosis entre souches	Sous-tâche(s) : Etude de la croissance et de la survie en présence de pathogènes
Descriptif : Les problèmes survenus en 2008 et liés à IHNV conduisent à détruire les animaux de sang hawaïen. Le suivi zootechnique et sanitaire des lots en 2008 doit faire l'objet d'un rapport. ARRET des expérimentations fin 2008	
Produits attendus : <ul style="list-style-type: none"> ➢ T Fiche biotechnique sur les essais réalisés en infection expérimentale en 2008 ➢ T rapport final première introduction Hawaii 	Conditions de transfert : réintroduction de la souche avec maintien de son statut SPF
Lien avec autres tâches : - Fiche 3B.5	
Commentaires : .	

Action 3B : La Crevette - Génétique Fiche 3B.6 *	
Tâche : Amélioration génétique par sélection	Sous-tâche(s) : Validation de méthodes d'évaluation du niveau d'expression de gènes de résistance aux vibrioses (<i>V. penaeicida</i> et <i>V. nigripulchritudo</i>).
Descriptif : Etude de la stabilité temporelle (intra et intermue) du caractère du niveau d'expression de peptides qui ont déjà démontré leur capacité à différencier des animaux calédoniens possédant des capacités de survie différentes. Mise au point d'un protocole de marquage individuel et de stockage sur quelques jours de plusieurs centaines d'animaux adultes	
Produits attendus : R Publication sur la stabilité temporelle de l'expression des peptides d'intérêt T Fiche biotechnique sur le protocole de marquage et stockage des candidats à la reproduction	Conditions de transfert : - développement par la profession d'une approche de sélection génétique au sein de la filière.
Lien avec autres tâches : Outil utile le cas échéant pour la sélection expérimentale assistée par marqueur au sein d'une population composite.	
Commentaires : Si la stabilité temporelle intra et/ou inter-mue est démontrée, l'étape expérimentale suivante sera de vérifier l'héritabilité de ce caractère A long terme, une stratégie de sélection <i>sensu stricto</i> qui pourrait intégrer de tels marqueurs de résistance devra aussi tenir compte d'éventuels autres objectifs de sélection (valorisation protéines végétales par exemple ?)	

Action 4 – Suivi des élevages et aide à la gestion des fermes et de la filière – resp. J. Herlin

Action 4 : Suivi des élevages et aide à la gestion des fermes et de la filière Fiche 4.1 ***	
Tâche 1 : Veille clinique	Sous-tâche(s) : Mise en œuvre et optimisation du système
Descriptif : En 2009, la veille prolongera le développement du « module veille clinique » testé en 2008 en développant des routines d'exploitation des données favorisant l'édition de bilans et synthèses. La possibilité d'associer chaque épisode de mortalité archivé dans Stylog à un résultat de diagnostic précis permettrait d'optimiser la phase de traitement des données sur les conditions d'apparition de ces mortalités.	
Livrables : T Compte-rendu d'intervention et rapports d'analyse, synthèses et bilans.	Conditions de transfert : - Accords des partenaires de la veille clinique - Déclaration des cas de mortalité - Finalisation de la convention et mise en réseau de Stylog
Lien avec autres tâches : Pathologie et Environnement	
Commentaires : Cette tâche associe directement l'Ifremer (DAC/Koné tout particulièrement) à la DAVAR (possibilité de fichiers d'archivage des résultats de laboratoire et synthèses communs) et aux aquaculteurs (condition d'exploitation des données issues de Stylog liées aux épisodes de mortalité à préciser dans la convention).	

Action 4 : Suivi des élevages et aide à la gestion des fermes et de la filière Fiche 4.2 ***	
Tâche 2 : Base de données	Sous-tâche(s) : Administration, Evolution et maintenance de la base Stylog
<p>Descriptif :</p> <p>Le GFA (/GIE ?) souhaitant analyser les données issues de Stylog en cours de campagne, la pérennisation de l'utilisation de l'outil et son déploiement sur un maximum d'exploitations est indispensable.</p> <p>Pour ce faire, différentes actions sont nécessaires :</p> <ul style="list-style-type: none"> - l'évolution des modules Stylog développés en concertation avec le comité des utilisateurs, - la formation des aquaculteurs non utilisateurs de Stylog, - la finalisation de la convention multipartenaires sur la propriété des données, les droits d'accès, les procédures de collecte, de mise à jour et d'exploitation, - la mise en réseau des données pour un accès extranet par le GFA, nécessitant la création : <ul style="list-style-type: none"> o d'une base en réseau (oracle, MySQL, PostGréSQL), permettant de centraliser les données o d'un module de mise en forme et de transfert des données, o d'un cahier de spécifications pour le mode d'accès aux données (site inter/intra/extranet d'accès aux données brutes / agrégées / visualisation sous forme graphique...) 	
<p>Livrables :</p> <p>T nouvelle version du module ferme</p> <p>T prototype de base de données en réseau et tests</p> <p>T cahier des spécifications pour le mode d'accès aux données</p>	<p>Conditions de transfert :</p> <p>Convention multipartenaires finalisée</p>
<p>Lien avec autres tâches : Elaboration de produits Stylog (Fiche 4.3)</p>	
<p>Commentaires :</p> <p>Poursuite de la collaboration avec les informaticiens de l'Ifremer métropole. Les temps de développement du module de mise en forme des données et de l'interface d'interrogation de la base sont conditionnés aux besoins des utilisateurs.</p>	

3. Fiches actions 2010 du projet DÉDUCTION

ifremer

**Centre du Pacifique
Département LEAD**
BP 2059 – 98846 Nouméa Cedex
Nouvelle-Calédonie

Décembre 2009

Coord. B. Beliaeff, Chef de Projet

Projet « DEDUCTION »

DEveloppement DURable de la
Crevetticulture, Traitement de l'Information et
Observatoire du système en Nouvelle-
Calédonie »

Programmation annuelle :
Recueil des Fiches Actions 2010

Carte génétique du plasmide pBig de *Vibrio nigrivulcanitudo* souche SFn1

SYNTHESE DE LA PROGRAMMATION 2010

Rappel :

DESANS (Défi Santé *Stylirostris*) a permis de mieux comprendre le réseau de causes entre les différents facteurs de risque qui sont susceptibles d'engendrer les vibrioses de type *syndrome d'hiver* ou 93 et *syndrome d'été*. La synthèse réalisée lors de *Styli 2006*, concluant le projet DESANS, a mis en exergue l'importance du confort écologique dans les bassins qui détermine le bon état physiologique des animaux leur offrant ainsi une plus grande résistance vis-à-vis des pathogènes. Les principaux facteurs de risque environnementaux sont, dans le cas du syndrome 93, les variations brutales de température à la limite basse du *preferendum* thermique de la crevette et dans celui du syndrome d'été les conditions d'instabilité du milieu d'élevage et notamment de la production phytoplanctonique.

2010 est la dernière année de DEDUCTION et correspondra à l'automne 2010 à la **restitution** des résultats obtenus. Sur la période de 4 ans. Un **gros effort de valorisation** sera donc mené au cours de cette année en particulier pour la partie « Environnement ». Les thématiques « Crevette » et « Pathologie » étant soient dans la **continuité** des travaux, pouvant se poursuivre dans l'après-DEDUCTION et en particulier dans le cadre des travaux de thèse de D. Pham soit dans l'arrêt avec la fin de l'action « Génétique ».

En environnement, l'année 2010 sera marquée par :

- La **valorisation** scientifique des résultats acquis dans le cadre de la thèse de R. Lucas [1.1].
- La **valorisation** scientifique et technique des résultats obtenus pour la comparaison SASV/SF d'une part et Aigue Marine d'autre part : un rapport scientifique et technique de présentation des résultats, un protocole proposant les stratégies à mettre en place pour l'utilisation des indicateurs identifiés qu'ils soient biogéochimiques ou biologiques [1.2].
- Les expérimentations à mener dans le cadre de la thèse portant sur l'**étude des flux biogéochimiques à l'interface Eau-Sédiment** avec la présence du doctorant à la SASV à partir d'avril [1.3].

En pathologie, il s'agit de **poursuivre la caractérisation de la virulence de *Vibrio penaeicida* et *V. nigripulchritudo*** en collaboration avec l'Institut Pasteur, et notamment sur le rôle des plasmides dans la pathogénicité. [2.1]. La **valorisation** des travaux sur le risque bactériologique en assec se conclura via la rédaction d'un article scientifique [2.2]. Seront également poursuivis les tests effectués sur les probiotiques naturels [2.4]. Les premiers essais n'ayant pas été concluants faute d'infections du matériel biologique, on relancera les expérimentations sur la prévention des infections virales via l'ARN interférence [2.5]. L'action [3B.6] auparavant gérée par l'action « Génétique » sera désormais sous la responsabilité conjointe de Y. Labreuche. & N. Wabete. En 2010, on devrait obtenir les résultats des expérimentations menées à la SASV sur la stabilité temporelle de l'expression des gènes de résistance, en intra- et inter-mues.

La fiche [3A.1a] reprend l'étude des besoins énergétiques des larves ; cette fiche devra être affinée conditionnellement aux échanges à venir entre éclosiers et Ifremer. En effet, les modalités expérimentales retenues en particulier concernant l'alimentation pourraient être révisées pour être en cohérence avec les évolutions zootechniques de cette filière. Toujours en écophysiologie larvaire, les **optima de salinité seront recherchés** [3A.1c] et les **profils**

anti-oxydants déterminés [3A1.d] aux différents stades larvaires, en vue de conditions zootechniques optimales, dans un souci global d'obtention de PL de qualité. L'expérimentation en floc est poursuivi avec la **comparaison des performances des géniteurs entre terre et floc** [3A1.b]. Enfin une publication scientifique sur les résultats du probiotique Bactocell © clôturera la fiche [3A.2].

En tant qu'activités récurrentes, 2010 verra la poursuite de la veille clinique [4.1], et de l'administration, évolution et maintenance de la base Stylog [4.2] avec pour cette fiche la continuité dans le **transfert en cours de finalisation entre Ifremer Koné et le GFA**. L'analyse statistique des données de la base Stylog sera approfondie avec une étude de la typologie des stratégies zootechniques vues au travers des élevages de la base [4.3]. Enfin, la mise en place de la **démarche biosécurité** [4.4] sera poursuivie.

N.B.

Action transversale : Communication et Valorisation (1 fiche) – resp. B. Beliaeff

Communication et Valorisation **	
Tâche : Communication et transfert des connaissances	Sous-tâche(s) : Produits de synthèse des résultats du projet
Descriptif : Outre les rencontres techniques conduites dans le cadre de la marche du Comité Technique il s'agit de l'organisation d'échanges pérennes fréquents et systématiques dans les deux sens, facilitant le transfert des connaissances, l'anticipation de la gestion de «crises» et l'adaptation du porter à connaissance aux différents types d'interlocuteurs (professionnels, collectivités, état, partenaires scientifiques et grand public).	
Produits attendus : <ul style="list-style-type: none"> • T. Bilan annuel intégré dans le bilan 2007-2010 • T Veille technique et restitution d'éléments de cette veille • • T Evolution et enrichissement du site web du DAC • T Rapport activité annuel • T. Compilation production scientifique DEDUCTION <p>Pour mémoire fiches biotechniques/protocoles citées dans les autres actions</p>	Conditions de transfert : <p>Participations à des réunions techniques mixtes régulières visant à « mettre à plat des questions spécifiques » et contribuer à la rédaction d'un manuel des bonnes pratiques (profession/collectivités territoriales/lfremer)</p> <p>Mise en place des échanges à la faveur de Comité(s) Technique(s)</p> <p>Résultats scientifiques marquants autour des réunions techniques</p>
Lien avec autres tâches : Lien avec toutes autres tâches des quatre actions du projet.	

Action 1 – Environnement Bassin (3 fiches) – resp. L. Della Patrona

Action 1 : Environnement-bassin Fiche 1.1 *	
Tâche : Colonne d'eau	Sous-tâche(s) : Gestion des blooms phytoplanctoniques (rapports N/P, identification des successions,...)
Descriptif : Valorisation scientifique des résultats acquis : <ul style="list-style-type: none"> • changements écosystémiques dans les bassins (données bassin H/SASV); • effet des taux de nutrition sur le phytoplancton ; • biodiversité phytoplanctonique en collaboration avec Cl. Courties (CNRS/P VI). 	
Produits attendus : <p>T Participation à la fiche technique 6 - Le renouvellement d'eau et la gestion de la colonne d'eau, à partir de l'ouvrage <i>Synthèse des connaissances</i> (Della Patrona & Brun)</p> <p>R article(s) soumis à revue à comité de lecture (voir descriptif)</p>	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches :	
Commentaires : Thèse de R. Lucas non encore soutenue en novembre 2009. <i>Relais à prendre par l'équipe Ifremer pour assurer la valorisation des résultats acquis.</i>	

Action 1 : Environnement-bassin	
Fiche 1.2 *	
Tâche : Caractérisation des fonds de bassin et relations avec le syndrome d'été	Sous-tâche(s) : Expérimentations SEAFARM/St-Vincent (2006) et Aigue Marine/St-Vincent (2007)
Descriptif : Série d'expérimentations visant à démontrer le rôle de l'interface eau-sédiment dans le déclenchement du syndrome d'été sur une ferme présentant un niveau d'eutrophisation très important, une seconde exprimant une faible productivité globale, les deux en comparaison avec un bassin témoin du DAC. 2010 verra la finalisation de la valorisation des résultats sous différentes formes (voir <i>Produits attendus</i>) : Rapport de présentation des résultats, proposition de protocole(s) pour l'utilisation opérationnelle des indicateurs retenus, publications scientifiques.	
Produits attendus : R et T Rapport technique + Fiche Biotechnique sur les évolutions comparées de paramètres biogéochimiques sédimentaires en milieu dystrophe (reconduit pour cause de retard pris dans les analyses) R et T Validation d'indicateurs de dysfonctionnement de l'IES (reconduit pour cause de retard pris dans les analyses) R et T Validation des foraminifères comme indicateurs d'état de fonds de bassin	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches : Thèse sur les échanges à l'EIS (1.3)	
Commentaires : Du fait du travail important de valorisation à mener les produits attendus courent sur la période 2009-2010	

Action 1 : Environnement-bassin	
Fiche 1.3 **	
Tâche : Amélioration des connaissances de l'interface eau-sédiment en bassins de crevettes.	Sous-tâche(s) :
Descriptif : Ce travail vise à poursuivre l'élucidation des processus régissant la qualité de l'environnement bassin. Il s'agira de décrire les interactions biogéochimiques entre le sédiment et la colonne d'eau (CE) en milieu dystrophe, c'est-à-dire surenrichi, et en particulier le rôle de l'interface eau-sédiment (IES). Ce travail vise à quantifier expérimentalement au niveau de cet interface les échanges d'oxygène (et d'autres espèces chimiques) et à les modéliser numériquement. Les expérimentations seront conduites dans des mésocosmes (bacs) situés à Ifremer/Station de St-Vincent et incluront l'étude, à l'IES, des flux d'oxygène, S, N, P, Fe, et Mn, en fonction notamment de la matière organique (MO) sédimentaire et de la bioturbation (qui seront contrôlées), et de la température. Ils seront quantifiés en utilisant des cloches benthiques et des carottages. Les données seront utilisées pour calibrer la réponse d'un modèle numérique, qui devrait permettre de définir les enveloppes des conditions de température, d'apport de MO, d'oxygène dissous de la CE qui permettent de garder l'IES en régime oxic (oxygène en concentration suffisante), et de diminuer les risques d'hypoxie (sous-oxygénation) de la colonne d'eau. Arrivée du thésard en avril 2010 jusqu' en 2011. 2010 verra la mise au point des conditions expérimentales (calibration, mise en place des mésocosmes, tests des équipements divers, études pilotes, etc.) avec probable lancement des expériences proprement dites en octobre 2010.	
Produits attendus 2010 et +: T Réunion technique : présentation des objectifs de la thèse R. Présentation aux Doctoriales 2010 R et T Utilisation des connaissances acquises expérimentalement pour rationaliser de « bonnes pratiques » d'élevage crevetticole, pour ce qui est de l'influence du sédiment des bassins sur la qualité du milieu de vie des crevettes, la colonne d'eau.	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches :	
Commentaires : Thèse en co-encadrement avec J. Knoery (Directeur Dépt. Biogéochimie et Ecotoxicologie IFREMER, centre de Nantes) – participation de H. Lemonnier et L. Della Patrona « Caractérisation du couplage biogéochimique entre sédiments et colonne d'eau en milieu dystrophe : cas des bassins d'élevage de crevettes en Nouvelle-Calédonie ».	

Action 2 – Pathogènes, Infections, Epidémiologie (4 fiches) – resp. Y. Labreuche

Action 2 : Pathogènes, infections, épidémiologie	
Fiche 2.1 ***	
Tâche : PATHOGENES	Sous-tâche(s) : Virulence des bactéries pathogènes
Descriptif : 2010 correspond à la poursuite de la caractérisation des exotoxines de <i>V. penaeicida</i> pour déterminer le facteur toxique responsable de l'effet léthal chez la crevette. S'agissant de <i>V. nigripulchritudo</i> , différents plasmides ont été mis en évidence au cours de 2009 ; leur implication respective dans la pathogénicité sera évaluée en 2010, poursuivant en cela les travaux initiés en 2009. L'équipe PIE participe à l'encadrement d'un VCAT sur ce sujet et apporte un soutien technique pour la collection de souches de vibrions pathogènes de la crevette et du corail, et réalise les infections expérimentales.	
Produits attendus 2009-2010 : R Publication(s) scientifique(s) T Communication à la profession	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches :	
Commentaires : Le VCAT est positionné à l'Institut Pasteur NC, en relation avec PIE et Frédérique le Roux, chercheur IFREMER détachée à l'Institut Pasteur Paris et depuis 2009 à la <i>Harvard Medical School</i> (USA) qui continue le travail de Yann Reynaud sur <i>V. nigripulchritudo</i> .	

Action 2 : Pathogènes, infections, épidémiologie	
Fiche 2.2	
Tâche : INFECTION	Sous-tâche(s) : Voies d'entrée du pathogène <i>Vibrio penaeicida</i> dans la crevette adulte
Descriptif : Il s'agissait de décrire le processus infectieux en suivant le pathogène dans les différents organes de l'animal suite à une infection expérimentale par balnéation. La technique choisie est de l'hybridation <i>in situ</i> . Cette technique permet de caractériser une espèce bactérienne sur une préparation histologique grâce à une sonde nucléique. Les lames sont analysées par microscopie.	
Produits attendus 2009-2010 :	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches : Les informations recueillies sur le processus infectieux seront utiles à terme pour expliquer l'action des probiotiques utilisés.	
Commentaires : Tâche arrêtée faute de disponibilité de matériel biologique naïf.	

Action 2 : Pathogènes, infections, épidémiologie	
Fiche 2.3 *	
Tâche : PATHOGENES et EPIDEMIOLOGIE	Sous-tâche(s) : Utilisation des outils de détection des pathogènes sur le terrain
Descriptif : Etudier l'évolution de la répartition horizontale les pathogènes <i>V. nigripulchritudo</i> dans un bassin au cours d'un assec afin de cartographier les bactéries pathogènes et les bactéries totales dans le sédiment. Mise en place d'un protocole normalisé d'échantillonnage pour l'analyse bactériologique des bassins. L'année 2010 correspond à la valorisation scientifique au travers d'une publication à préparer.	
Produits attendus : R Publication à préparer	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches : Veille clinique 4.1	
Commentaires :	

Action : Pathogènes, infections, épidémiologie	
Fiche 2.4 **	
Tâche : Caractérisation de la qualité microbiologique en élevage larvaire	Sous-tâche(s) : recherche de bactéries probiotiques - élevages larvaires de crevettes.
Descriptif : Etude en conditions <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> des effets antagonistes de bactéries probiotiques vis-à-vis de vibrions pathogènes de larves de crevettes. Sélection de bactéries à caractère probiotique isolées d'écloseries réalisées en 2009. 2010 correspond à des tests des candidats probiotiques selon deux modalités : * Tests du probiotiques en conditions <i>in vitro</i> : <ul style="list-style-type: none"> - essais d'antagonisme vis à vis d'un vibron pathogène (recherche de halos d'inhibition) - expériences de co-culture du probiotique en présence du vibron pathogène (suivi des croissances bactériennes et détermination de la concentration en vibron) - effets du surnageant de culture synthétisé par le probiotique sur la croissance du vibron * Challenges expérimentaux en conditions <i>in vivo</i> : <ul style="list-style-type: none"> - tests de non pathogénicité du probiotique sur les élevages larvaires - exposition des larves au probiotique puis infection expérimentale par le vibron. Suivi des mortalités 	
Produits attendus 2009-2010: R Sélection de probiotiques adaptés aux écloseries : publication scientifique à préparer T Présentation aux aquaculteurs	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches : Lien à établir avec la thèse de D. Pham en écophysiologie larvaire.	
Commentaires : Nécessité de standardiser et d'améliorer la qualité des intrants au préalable.	

Action : Pathogènes, infections, épidémiologie	
Fiche 2.5 **	
Tâche : PATHOGENES	Sous-tâche(s) : mise au point d'une technique ARN interférence pour prévenir les infections virales à IHHN
<p>Descriptif : des travaux récents ont montré que l'introduction, par injection dans la crevette, d'ARN double brins (ARNdb) spécifiques d'un gène viral (WSSV ou YHV) permettait de prévenir la réplication du virus correspondant et par conséquent le déclenchement de mortalités. Ce phénomène repose sur un mécanisme naturel, décrit chez de nombreux organismes dont les crevettes pénéides, et désigné ARN interférence. Dans le cadre des problèmes d'infection virale par IHHN rencontrés chez <i>L. stylirostris</i>, l'objectif de ce projet consiste à développer une approche similaire d'ARN interférence comme moyen thérapeutique.</p> <p>Cette technique n'a jamais été appliquée chez <i>L. stylirostris</i> et dans le cas du virus IHHN. Il s'agit toujours de valider la faisabilité de cette approche, les premiers tests réalisés n'ayant pu aboutir en raison de mortalités d'origine bactérienne sur les animaux testés.</p> <p>L'injection d'ARNdb à chaque animal apparaissant irréalisable à l'échelle d'une ferme ou d'une éclosérie, il s'agira à plus long terme de mettre au point un moyen d'administration de ces ARNdb aux crevettes par voie orale, à travers l'alimentation notamment.</p>	
Produits attendus 2009-2010 : (état de la recherche trop précoce) R Publication(s) scientifique(s) ? T Communication à la profession	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches :	
<p>Commentaires : Nécessité de réaliser des tests d'infection expérimentale par IHHN sur des animaux sains, c'est-à-dire non-porteurs du virus. .</p>	

Action 3 : La Crevette – resp. L. Chim

3A : Ecophysiologie (4 fiches) – resp. L. Chim

Action 3A : La crevette Ecophysiologie	
Fiche 3A.1a *	
Tâche : Ecophysiologie larvaire et post-larvaire	Sous-tâche(s) : Besoins énergétiques des larves
<p>Descriptif : L'alimentation larvaire est essentiellement composée d'artemia ; cependant, la disponibilité, la qualité et le statut sanitaire des proies vivantes peuvent être variables. D'où la nécessité :</p> <ul style="list-style-type: none"> (i) De caractériser les besoins énergétiques, dont ceux liés à la respirométrie, des larves et des post-larves afin d'optimiser les doses en artemia (ii) Puis, de remplacer tout ou partie des proies vivantes par de l'aliment inerte (contrôle des ingrédients, maîtrise de la qualité sanitaire). 	
Produits attendus 2009-2010 : En attente (voir commentaires) -	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches :	
<p>Commentaires <i>Tâche menée dans le cadre de la Thèse D. Pham en collaboration avec Evialis/Bernaqua.</i></p> <p><i>Finalisation de la fiche dans l'attente d'une réflexion partagée avec la filière sur les priorités à définir dans le cadre de cette tâche suite à la réunion technique du 12/11/09.</i></p>	

Action 3A : La crevette Ecophysiologie	
Fiche 3A.1b**	
Tâche : Ecophysiologie larvaire et post-larvaire	Sous-tâche(s) : Influence des conditions d'élevage et de la nutrition du géniteur sur la reproduction et la qualité des nauplii.
<p>Descriptif : La production des larves est soumise à la qualité des géniteurs. Cette qualité est fonction de l'alimentation et des conditions d'élevage. Dans cette sous-tâche nous nous intéresserons en 2010 à la qualité des géniteurs issus de deux systèmes d'élevage : extensif en bassin de terre et en floc. L'influence du type d'élevage sur les performances de reproduction des mâles et des femelles sera également étudiée.</p> <p>Suite à une première expérimentation devant se terminer en avril 2010, le travail sera poursuivi en vue d'optimiser le système d'élevage, notamment par la stimulation de la production bactérienne avec un apport de matière organique présentant un ratio C/N équilibré (cf rapport Goguenheim & Chim, 2009).</p>	
Produits attendus :	Conditions de transfert :
<ul style="list-style-type: none"> - T protocole d'élevage - R selon les résultats publications scientifiques sur la production de géniteurs en intensif (floc). 	
Lien avec autres tâches :	
Commentaires	

Action 3A : La crevette Ecophysiologie	
Fiche 3A.1c*	
Tâche : Ecophysiologie larvaire et post-larvaire	Sous-tâche(s) : Mise en place des structures de l'osmorégulation et de respiration (œuf à PL)
<p>Descriptif : Les élevages larvaires se font dans certaines écloséries en conditions de salinité non maîtrisées et ou non contrôlées. Or les animaux dans les stades précoces n'auraient pas acquis leur pleine capacité respiratoire et osmorégulatrice et pourraient être de ce fait fragilisés face aux fluctuations de ce paramètre. Pour répondre à cette question nous étudierons par des méthodes d'histologie, de respirométrie et d'osmométrie la mise en place des fonctions de respiration et d'osmorégulation au cours du développement larvaire.</p> <p>2010 verra la valorisation des travaux de D. Pham : on s'attachera à rechercher les valeurs de salinité optimales pour l'élevage larvaire aux différents stades de développement des animaux.</p>	
Produits attendus 2009-2010:	Conditions de transfert :
<ul style="list-style-type: none"> - T Conditions optimales de salinité en élevage larvaire - R selon les résultats publications scientifiques sur ontogénèse de la respiration et d'osmorégulation chez la crevette. 	
Lien avec autres tâches :	
<p>Commentaires</p> <p>Tâche menée dans le cadre de la Thèse D. Pham en collaboration avec l'UMR5171 (Professeur Charmantier)</p>	

Action 3A : La crevette Ecophysiologie	
Fiche 3A.1d**	
Tâche : Ecophysiologie larvaire et post-larvaire	Sous-tâche(s) : Mise en place défenses antioxydantes et stress oxydatif chez les larves et PL.
<p>Descriptif :</p> <p>Les larves en élevage peuvent être soumises au stress oxydatif conséquence d'afflux de radicaux libres d'origine endogène (réponse immunitaire, métabolisme exacerbé) et exogène (UV – via l'eau traitée -, bactéries, xénobiotiques). De ce fait il est important de bien connaître l'état des défenses antioxydantes au cours du développement larvaire et de déterminer les phases critiques. Ces éléments nous permettront d'envisager le cas échéant un complément en antioxydants soit par la voie nutritionnelle soit directement dans le volume d'élevage.</p> <p>En 2010, les profils des défenses anti-oxydantes seront décrits chez les larves et les post-larves au cours de leur développement. Les profils obtenus seront comparés pour les animaux issus de bons et mauvais élevages (taux de survie à PL10). Ce travail se réalisera exclusivement dans l'écloserie de Saint-Vincent.</p>	
<p>Produits attendus 2009-2010 :</p> <ul style="list-style-type: none"> - T Fiche bio. Résumant les résultats de profils avec suggestion de traitement (aliment enrichi et/ou traitement de l'eau par anti-oxydants). - R selon les résultats publications scientifiques sur évolution des équilibres pro antioxydants au cours du développement larvaire. 	<p>Conditions de transfert :</p>
Lien avec autres tâches :	
Commentaires	

Action 3A : La crevette - Ecophysiologie	
Fiche 3A.2*	
Tâche : Probiotique en grossissement	Sous-tâche(s) : <i>Pediococcus acidilactici</i> (BACTOCELL®)
<p>Descriptif :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Influence du probiotique sur la croissance et l'utilisation de l'aliment (digestion, allocation énergétique) - 	
<p>Produits attendus :</p> <ul style="list-style-type: none"> - - R 1 publication : croissance & allocation énergétique - T Fiche bio (2010) : Synthèse des résultats obtenus avec <i>Pediococcus</i>. 	<p>Conditions de transfert :</p> <ul style="list-style-type: none"> - -
Lien avec autres tâches :	
Commentaires :	

3B : Génétique (6 fiches) – Plus de responsable à Saint-Vincent en 2010

Action 3B : La Crevette Fiche 3B.3 *	
Tâche : Conservation et exploitation de la diversité génétique disponible	Sous-tâche(s) : Réfrigération du sperme
Descriptif : Cette tâche n'a pu progresser en 2009 compte tenu problèmes de disponibilité de matériel biologique rencontrés à Saint-Vincent et du fait qu'une partie des données nécessaires à la définition du protocole optimal ne soit plus disponibles à Tahiti. Le milieu de conservation devrait être redéfini grâce à des expérimentations spécifiques (dose et type d'antibiotique en particulier) et le type de matériel à conserver doit être confirmé (ampoule spermatique, spermatophore ou boule de sperme). Enfin des données statistiques sur les performances de reproduction obtenues avec le meilleur protocole de réfrigération possible devraient être collectées. Cette tâche ne peut être réalisée en 2010 compte tenu des moyens requis humains et matériels pour la mise en place d'une telle expérimentation.	
Produits attendus : ➤ T Protocole de réfrigération utilisable en conservation de souches ou en réintroduction de variabilité génétique	Conditions de transfert : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Efficacité de la méthode suffisamment élevée pour être pratiquée à l'échelle industrielle ▪ Eventuelle introduction de sang neuf par la voie mâle si pas de possibilité de réintroduire une souche domestiquée (Hawaii ou autre)
Lien avec autres tâches : Si la technique est efficace, elle facilitera les plans de croisements à mettre en œuvre, tant sur le plan expérimental que sur celui de la conservation et limitera les transferts d'animaux	
Commentaires :	

Action reprise par Y. Labreuche (PIE)& N. Wabete (Ecophysiologie)

Action 3B : La Crevette - Génétique	
Fiche 3B.6 *	
Tâche : Amélioration génétique par sélection	Sous-tâche(s) : Validation de méthodes d'évaluation du niveau d'expression de gènes de résistance.
Descriptif : Suite de l'étude de la stabilité temporelle (intra et inter-mue) du caractère du niveau d'expression de peptides qui ont déjà démontré leur capacité à différencier des animaux calédoniens possédant des capacités de survie différentes : les échantillons prélevés dans les expérimentations réalisées en 2009 seront analysés. Cette étude se fera toujours en relation avec l'équipe de Montpellier, mais la technique d'analyse sera transférée en Nouvelle-Calédonie (utilisation de la Plate-forme du Vivant).	
Produits attendus : R Publication sur la stabilité temporelle de l'expression des peptides d'intérêt T fiche biotechnique sur les résultats obtenus (protocole qPCR déjà largement publié)	Conditions de transfert : - développement par la profession d'une approche de sélection génétique au sein de la filière.
Lien avec autres tâches : Outil utile le cas échéant pour la sélection expérimentale assistée par marqueur au sein d'une population composite.	
Commentaires : Si la stabilité temporelle intra et/ou inter-mue est démontrée, l'étape expérimentale suivante pourra viser à vérifier l'héritabilité de ce caractère. A long terme, une stratégie de sélection <i>sensu stricto</i> qui pourrait intégrer de tels marqueurs de résistance devra aussi tenir compte d'éventuels autres objectifs de sélection (valorisation protéines végétales par exemple ?). Cette opération serait de toute façon à envisager au delà de DEDUCTION, conditionnellement à la mobilisation des compétences requises.	

Action 4 – Suivi des élevages et aide à la gestion des fermes et de la filière – resp. J. Herlin

Action 4 : Suivi des élevages et aide à la gestion des fermes et de la filière	
Fiche 4.1 ***	
Tâche 1 : Veille clinique	Sous-tâche(s) : Mise en œuvre et optimisation du système
Descriptif : En 2010, la veille prolongera le développement du « module veille clinique » testé auparavant afin d'améliorer l'ergonomie de l'application de saisie et d'exploitation des données en fonction des attentes des utilisateurs. La possibilité d'associer chaque épisode de mortalité archivé dans Stylog à un résultat de diagnostic précis permettrait d'optimiser la phase de traitement des données sur les conditions d'apparition de ces mortalités.	
Livrables : T Compte-rendu d'intervention et rapports d'analyse, synthèses et bilans.	Conditions de transfert : - Accords des partenaires de la veille clinique - Déclaration des cas de mortalité
Lien avec autres tâches : Pathologie	
Commentaires : Cette tâche associe directement l'Ifremer (DAC/Koné tout particulièrement) à la DAVAR (possibilité de fichiers d'archivage des résultats de laboratoire et synthèses communs) et aux crevetticulteurs (condition d'exploitation des données issues de Stylog liées aux épisodes de mortalité). Tâche transférable au Centre Technique Aquacole.	

Action 4 : Suivi des élevages et aide à la gestion des fermes et de la filière Fiche 4.2 ***	
Tâche 2 : Base de données	Sous-tâche(s) : Administration, Evolution et maintenance de la base Stylog
Descriptif : Le GFA s'appropriant la gestion des données et des applications dans un but d'analyse des données en cours de campagne et de reporting pour la filière, il s'est adjoint dès 2009 les compétences nécessaires pour que cette tâche lui soit transférée d'ici fin 2010. Les actions d'accompagnement et de transfert initiées en 2009 seront poursuivies en 2010 : <ul style="list-style-type: none"> - l'évolution du module ferme de Stylog en fonction des besoins liés à la bancarisation en réseau des données, - la participation à la rédaction d'une convention Ifremer / GFA (ou centre technique) pour l'utilisation d'une partie des données de la base à des fins de recherche, - la rédaction de la documentation technique complète de Stylog - module ferme, - la poursuite de la mise en réseau des données dans Stylibase : ajustement du modèle physique si nécessaire, aide à la conception du traitement de chargement,... 	
Livrables : T nouvelle version du module ferme (si nécessaire) T documentation technique du module ferme de stylog T nouvelle version du manuel utilisateur T base en réseau avec traitement de chargement des données du module ferme	Conditions de transfert :
Lien avec autres tâches : Elaboration de produits Stylog (Fiche 4.3)	
Commentaires : Poursuite de la collaboration avec les informaticiens de l'Ifremer métropole. Tâche transférable au Centre Technique Aquacole	

Action : Suivi des élevages et aide à la gestion des fermes et de la filière Fiche 4.3 **	
Tâche 3 : Exploitation des données	Sous-tâche(s) : Elaboration de produits Stylog
Descriptif : Suite à la création des premiers bulletins techniques d'élevages permettant aux aquaculteurs de disposer de courbes de références issues de leurs fermes, une poursuite du travail est envisagée sur la caractérisation des élevages de référence de manière semi-automatique. La diffusion des bulletins techniques 2009-2010 sera réalisée en partenariat avec le GFA. Une analyse de la typologie des stratégies zootechniques et de leurs impacts sur les performances complètera l'étude initiée en 2009 sur les facteurs de réussite des élevages.	
Livrables : T Rapports techniques d'élevage en fin de campagne T Rapport VCAT sur l'exploitation des données Stylog T Documentation technique des scripts développés	Conditions de transfert : Fourniture des données par le GFA
Lien avec autres tâches : Base de données	
Commentaires : Réflexion à engager sur un transfert éventuel de tout ou partie de la tâche et des adaptations nécessaires des scripts pour leur compatibilité avec Stylibase.	

Action 4 : Suivi des élevages et aide à la gestion des fermes et de la filière Fiche 4.4 **	
Tâche 4 : Biosécurité	Sous-tâche(s) : Mise en place d'une démarche de biosécurité
Descriptif : Les inquiétudes relatives au virus IHNV en Nouvelle Calédonie, et plus particulièrement à la station de Saint-Vincent, ont conduit le LEAD à considérer l'application de principes de biosécurité aux installations expérimentales (évaluation du risque, vide sanitaire, modification d'installations techniques et protocoles). La démarche initiée dès fin 2008 sera poursuivie en 2010, l'objectif principal de ces mesures étant de pouvoir disposer de matériel biologique au statut sanitaire acceptable (animaux à faible charge virale IHNV < ou = 10 ³ copies/g ADN, ne déclarant pas la maladie) pour mener des expérimentations dans des conditions satisfaisantes (absence de biais liés à la maladie).	
Livrables : T Mise au point de procédures de biosécurité, en particulier en éclosion T Appui à la réflexion de mise en place de mesures de biosécurité dans les structures de la filière.	Conditions de transfert : - Disponibilité de matériel et d'outils adaptés à cette démarche. - Disponibilité d'animaux triés et peu porteurs d'IHNV.
Lien avec autres tâches : Action transversale en lien avec toutes les autres actions.	
Commentaires : Cette tâche en relation avec les autres actions du programme, peut aussi participer à une réflexion de mise en place de mesure de biosécurité dans la filière, et notamment sur le sujet du développement de souches de crevettes SPF en Nouvelle Calédonie (dossier « Conservatoire »).	